

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. METCHNIKOFF.

LES PARTICULARITÉS DE LA NUTRITION ET LA VIE SYMBIOTIQUE CHEZ LES MOUCHES TSÉTSÉS

par E. ROUBAUD.

La genèse de ce travail est due à une étude sur les processus spéciaux de la métamorphose des Glossines, que j'avais entreprise en 1914, à l'occasion du Jubilé Metchnikoff. Interrompues pendant la guerre, puis reprises à des intervalles divers, ces recherches n'ont conduit à une orientation tout autre que ne le comportait mon intention primitive. Après m'être efforcé d'interpréter le mécanisme particulier de la Nymphose chez ces mouches, j'ai été amené, en reprenant l'étude de certaines formations à bactéroïdes, mises en évidence par l'auteur allemand Stuhlmann dans certaines parties déterminées de l'intestin des tsétsés adultes, à préciser la nature et à rechercher la genèse de ces formations, aux stades antérieurs de la vie de ces insectes.

De proche en proche, j'ai été ainsi conduit à m'attacher aux particularités spéciales offertes par le fonctionnement de l'appareil de la nutrition, à tout âge, chez les Glossines, à sérier entre

eux tous les faits ainsi relevés et finalement à les rattacher les uns aux autres comme la conséquence d'un processus fondamental de symbiose nutritive avec certains organismes du type des levures, vivant dans l'intestin des tsétsés et que l'on retrouve chez les Mouches piqueuses pupipares. C'est cet ensemble de données que je présente dans ce Mémoire.

La question de la symbiose, chez les organismes supérieurs, est actuellement très discutée. Mon intention n'était pas de prendre parti dans les débats qui s'amorcent journellement sur ce chapitre, depuis l'apparition de l'ouvrage de P. Portier sur les symbiotes. Mais, sans aller jusqu'à une généralisation aussi complète que l'a tentée l'auteur, il est incontestable que l'étude des insectes offre des exemples nombreux d'associations héréditaires avec des micro-organismes qui paraissent jouer un rôle nécessaire dans la vie de ces êtres.

L'ensemble des données que j'ai tenté de grouper, touchant les conditions spéciales de la nutrition des tsétsés, en les comparant à ce qui se passe chez les diptères des groupes voisins, plaide fortement en ce sens. Si la démonstration physiologique directe du rôle des levures symbiotiques dans la nutrition de ces mouches n'est pas facile, on peut du moins, par une étude attentive des faits d'ordre divers, tels que nous les présentons, en dégager des indications qui, je le crois, paraîtront convaincantes.

Au surplus, je me suis placé simplement dans un domaine encore voisin de l'hypothèse; mais j'ai tenu à orienter dès à présent les recherches ultérieures en exposant les faits tels qu'ils me paraissent se relier les uns aux autres. Je me propose de revenir plus tard, s'il m'est possible, principalement sur le côté expérimental de la question.

LA NUTRITION CHEZ LA LARVE

MODE DE FONCTIONNEMENT DE L'ÉPITHÉLIUM INTESTINAL.
SES CONSÉQUENCES BIOLOGIQUES.

Ainsi que je l'ai déjà montré dans mon précédent travail sur *Glossina palpalis* (1), les larves de Glossines, comme celles des Pupipares types, sont exclusivement nourries pendant toute leur vie intra-utérine aux dépens de la sécrétion particulière

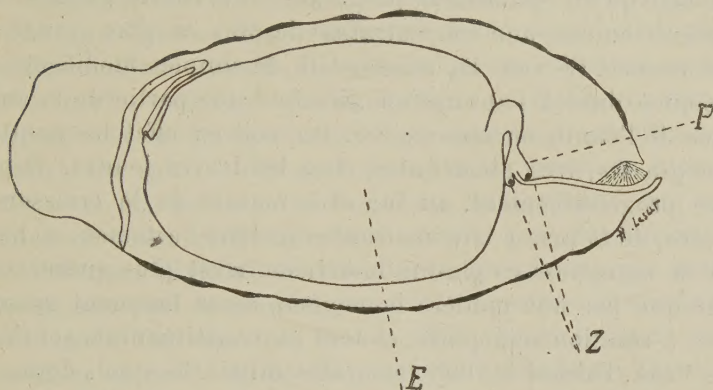


FIG. 1. — Coupe sagittale d'une larve de glossine, montrant les grands traits de l'organisation digestive : E, sac stomacal provenant de l'accumulation dans l'intestin moyen d'une masse énorme de plasma nourricier ; P, proventricule ; Z, zone des symbiotes larvaires.

des glandes annexes de l'appareil femelle. Ces glandes se ramifient à l'infini et prennent un développement tout particulier chez la mouche mère, au cours de la gestation.

La sécrétion nutritive est une émulsion de couleur blanche qui remplit les fonctions du lait chez les mammifères et peut être biologiquement assimilée à ce dernier. La larve se gorge de ce lait avec une abondance telle que son intestin moyen finit par former un sac volumineux, remplissant plus des deux tiers de la cavité du corps (fig. 1, E). On constate ainsi que,

(1) La *Glossina palpalis*, sa biologie, son rôle dans la transmission des Trypanosomiases, Thèse Fac. Sc. Paris, 1909; et MARTIN, LEBŒUF et ROUBAUD, *La Maladie du Sommeil au Congo français*, Paris, Masson, 1909.

pendant toute la vie larvaire, le lait ne cesse de s'accumuler, et l'estomac de se distendre, ce qui démontre *a priori* que la digestion de la substance nutritive est infiniment moins rapide que son ingestion. Examinons quelles peuvent être les raisons physiologiques d'une telle accumulation du lait dans l'estomac de la larve.

Tout d'abord, lorsqu'on examine le contenu intestinal larvaire, un fait paraît ressortir immédiatement : c'est l'inertie apparente de l'épithélium intestinal au point de vue de la transformation chimique de l'aliment. La matière nutritive ingérée par la larve ne paraît subir d'autres modifications dans l'estomac qu'un épuisement progressif en matières grasses, et, consécutivement, une concentration de plus en plus grande de sa substance. Ce sont là, semble-t-il, de simples modifications physiques dues à l'absorption directe d'une partie de la substance de l'émulsion nourricière. On voit en effet les gouttelettes grasses, très abondantes chez les larves jeunes, disparaître progressivement, au fur et à mesure de la croissance larvaire, de la masse laiteuse contenue dans l'estomac ; si bien qu'à la nymphose ce plasma nourricier n'est plus guère constitué que par une matière homogène, assez finement granuleuse, à réaction acidophile, et dont les constituants insolubles dans l'eau, l'alcool à 100°, les acides dilués, le xylol, donnent les réactions générales des substances protéiques. Il s'effectue par conséquent, au cours de la vie larvaire, une sorte de triage par l'épithélium intestinal des constituants de l'émulsion nourricière. Les corps gras sont absorbés en premier lieu, avec une activité particulière, et, après épuisement plus ou moins complet des matières grasses, il reste dans l'estomac une masse plasmatique presque entièrement constituée par des matières albuminoïdes, dont nous verrons la destinée ultérieure.

En même temps, et comme conséquence directe de cette activité spéciale d'absorption des matières grasses manifestée par son épithélium stomacal, on voit l'organisme de la larve se saturer de graisse. Cette substance, en effet, non seulement constitue l'élément dominant des réserves contenues dans le corps adipeux jusqu'à la nymphose, mais on la retrouve aussi en abondance dans les éléments figurés du sang de la larve. Lorsqu'on ponctionne une larve arrivée au terme de sa crois-

sance, on constate que les leucocytes sont chargés d'inclusions volumineuses, de nature exclusivement grasseuse (fig. 7). Enfin, les cellules de l'épithélium intestinal elles-mêmes se montrent, dans toute l'étendue de l'intestin moyen, exagérément distendues par ces mêmes inclusions grasses, qui réduisent le cytoplasme à l'état de minces trabécules (fig. 3).

Si cette dernière particularité dénote une activité d'absorption toute spéciale à l'égard des matières grasses, elle ne traduit pas, par contre, que l'épithélium larvaire soit doué d'activité digestive franche à l'extérieur des cellules. On ne peut mettre en évidence, dans ces éléments surchargés de graisse, et le plus souvent réduits, par une tension extrême, à l'état de membrane d'une excessive minceur, les témoins histologiques ordinaires d'un processus physiologique de sécrétion externe. Cette inertie chimique de l'épithélium est d'ailleurs bien en rapport avec la stase prolongée de la matière nourricière à son contact. On sait d'autre part que chez les larves de mouches ordinaires (mouches à viande), ainsi qu'il résulte des expériences diverses réalisées par Guyénot, par Bogdanow, par E. Wollman, l'épithélium intestinal ne manifeste pas normalement non plus de grandes propriétés digestives et que la préparation de l'aliment par les bactéries protéolytiques est la condition naturelle du développement rapide de ces larves (1). Lorsque le milieu nutritif est facilement assimilable, les sécrétions digestives sont pour ainsi dire nulles et l'épithélium se borne à absorber : c'est ce qui se produit chez les larves de Glossines. Il est probable d'ailleurs que cette absorption n'est pas un phénomène purement passif, mais qu'elle suppose, surtout dans le cas des graisses, des modifications de contact plus ou moins profondes dues à l'activité physiologique des cellules, le mécanisme de l'absorption des substances grasses étant certainement complexe. Mais la sécrétion à distance dans la lumière intestinale de produits de digestion actifs ne paraît pas à envisager ici.

Les seules cellules de l'épithélium moyen des larves de Glossines qui pourraient manifestement traduire un processus

(1) Condition cependant non indispensable, comme l'a tout récemment montré Wollman qui a aisément nourri des asticots en milieu stérile mais facilement assimilable (cervelle). *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII n° 16, 31 mai 1919.

de sécrétion externe, il est vrai d'ordre particulier, sont les cellules du fond du cul-de-sac proventriculaire. Ce sont elles vraisemblablement qui sécrètent la membrane péritrophique. Ces cellules, qu'avec Ch. Pérez (1) je considère comme d'origine endodermique et formant la continuation directe antérieure des cellules du ventricule chylifique, ne présentent point de vacuoles graisseuses comme les éléments normaux de ce dernier. Elles sont hypertrophiées et d'aspect bien différent de celui des autres cellules de l'intestin moyen (fig. 12, z). Bornons-nous pour l'instant à signaler le fait, nous reviendrons ultérieurement avec plus de détails sur les intéressantes particularités morphologiques et biologiques dévolues à ces éléments.

L'inertie manifestée par l'épithélium stomacal des larves, au point de vue de la transformation chimique de l'aliment, s'explique naturellement par ce fait que l'émulsion nourricière maternelle est composée de principes directement assimilables. On en a la confirmation d'ailleurs par la disparition complète des glandes salivaires chez la larve, disposition qui est en rapport avec l'inutilité de toute préparation chimique de l'aliment,

Ainsi, l'épithélium digestif des larves de Glossines n'agit pas ou n'agit certainement que d'une façon très secondaire sur l'aliment, au point de vue chimique. Il se borne à jouer à son égard, d'ailleurs par un mécanisme sans doute complexe, un rôle d'absorption, avec triage électif des constituants graisseux. Tandis que ces derniers passent en excès dans l'organisme, où ils sont mis en réserve dans des tissus divers, la plus grande quantité des éléments protéiques contenus dans la riche matière nutritive ingérée par la larve, restent inabsorbés pendant la vie larvaire et s'accumulent simplement dans l'estomac. Les conséquences de ce mode de fonctionnement de l'épithélium digestif sont considérables au point de vue biologique; on peut en effet leur rapporter, d'une part les modifications d'ordre anatomique très particulières qui caractérisent le tractus intestinal des larves de tsétsés; et d'autre part aussi les conditions physiologiques spéciales qui dominent tout le processus de la métamorphose chez la puppe de ces mouches, et lui

(1) Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscides, *Arch. Zool. Exper.*, t. IV, n° 1, février 1910.

prêtent, par rapport aux autres Muscides non pupipares, son allure particulière.

Tout se passe en effet comme si, malgré la quantité considérable d'aliment ingérée, la larve de Glossine, trop richement alimentée en matières grasses, n'était qu'insuffisamment pourvue en matériaux de nature albuminoïde. La larve parvient à la nymphose avec une insuffisance notoire en réserves de cette nature, si on la compare aux larves correspondantes des autres Muscides à développement non pupipare. La plus grande quantité de ces réserves restent pour ainsi dire en dehors de l'organisme, non absorbées, et non assimilées, quoique ingérées et surchargeant par leur abondance même le sac stomacal.

Il est permis de penser que ce fait physiologique, lié comme on l'a dit au mode de fonctionnement de l'épithélium intestinal, est devenu la cause première des modifications anatomiques si particulières de l'intestin moyen des larves. Insuffisamment repue en aliments albuminoïdes, par suite de l'élection de son épithélium pour les matières grasses du lait, la larve de la tsétsé conserve pendant toute sa vie [intra-utérine une avidité nutritive extrême qui la porte à se surgorger de la sécrétion maternelle.

L'ingestion étant plus rapide que l'absorption, il se produit au cours de la vie larvaire une surcharge stomacale qui dilate progressivement l'intestin moyen et le transforme en ce sac volumineux que nous avons décrit. La masse plasmatique ainsi ingérée n'y subit que lentement le triage des matériaux immédiatement assimilables, par épuisement en premier lieu des éléments gras, tandis que la plus grande quantité de la matière albuminoïde reste inabsorbée.

Une autre conséquence de la faible quantité d'aliments albuminoïdes, assimilés par la larve, c'est que l'organisme larvaire n'élimine aussi qu'une quantité relativement faible de matériaux azotés de désassimilation. C'est là ce qui permet également d'expliquer cette deuxième particularité curieuse du tractus intestinal larvaire, chez les Glossines : le rectum ne communique pas avec l'intestin moyen; l'anus, d'autre part, n'est point fonctionnel et les matériaux d'excrétion, qui sont de nature exclusivement urinaire, simplement accumulés dans la lumière du rectum, pendant toute la vie larvaire et la vie

nymphale, ne pourront être rejetés au dehors qu'après l'achèvement des métamorphoses. On conçoit aisément qu'une telle particularité d'ordre anatomique ne soit compatible qu'avec l'absence complète des résidus alimentaires de la digestion, et avec la faible importance de l'excrétion urique. Et c'est bien en effet ce que l'on constate chez les larves de Glossines. Bien que le rectum ne serve plus qu'à l'accumulation des produits urinaires, puisqu'il ne communique qu'avec les tubes de Malpighi, la lumière de cet organe, au moment des métamorphoses, ne renferme qu'une quantité très faible de matériaux d'excrétion. D'autre part, le corps adipeux, qui, chez les larves de mouches ordinaires, ainsi que l'a montré Ch. Pérez, fonctionne largement comme rein d'accumulation, joignant à ses globules de nature grasseuse ou albuminoïde une quantité considérable de granulation du groupe urique, ce corps adipeux n'apparaît pas soumis, chez les larves de Glossines, à de semblables fonctions. L'hémalun n'y différencie pas de corpuscules basophiles entièrement ou partiellement colorables, pouvant faire songer à des éléments de la série xanthique, comparables aux *pseudo-nuclei* de Berlese, ou aux corpuscules basophiles décrits par les auteurs dans le corps gras des asticots. Il n'y a donc point surcharge de l'organisme larvaire de la tsétsé en produits de désassimilation azotés. Cet ensemble de particularités morphologiques ou physiologiques nous apparaît comme la conséquence directe du régime alimentaire et du fonctionnement particulier de l'épithélium digestif de la larve de Glossine. Cette larve ne désassimile que peu de matières azotées, parce qu'elle n'en assimile que peu.

LA NUTRITION PENDANT LA NYMPHOSE

A. — ÉVOLUTION DE L'INTESTIN MOYEN ET DE SON CONTENU.

Lorsque la larve de Glossine s'immobilise pour se transformer en pupe, son réservoir stomacal se trouve donc, comme nous l'avons dit, surchargé d'une ample masse de réserve albuminoïde, provenant du lait maternel dont l'épithélium digestif

a extrait en majeure partie les éléments gras. Quelle est la destinée de cette masse plasmatique qui représente la plus grande partie de l'aliment albuminoïde encore inassimilé, nécessaire à l'organisme de la Glossine adulte?

Dès le début de la nymphose (fig. 2), on voit exsuder en abondance de toute la périphérie du sac stomacal, mais particulièrement dans la région ventrale, un plasma homogène (p'') qui offre les mêmes réactions éosinophiles et sensiblement le même aspect général que le plasma contenu dans l'estomac, quoique plus finement granuleux. Cette substance se répand dans la cavité générale et vient baigner directement tous les organes, en particulier les éléments du corps gras. En même temps, on note une perte de substance importante à la périphérie de la masse plasmatique stomacale (p'). Des vides nombreux s'y produisent tandis que la portion centrale de cette masse se concentre au contraire davantage (p). On assiste manifestement à une exsudation de la matière nourricière albuminoïde de l'intestin dans la cavité générale.

Le phénomène ne débute pas en réalité au moment même de la nymphose; il est déjà manifeste chez les larves âgées qui n'ont point encore abandonné l'utérus maternel. Il est probable qu'il se produit pendant toute la vie

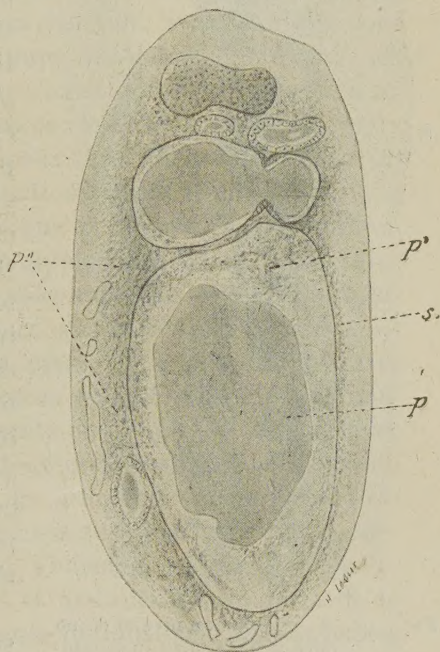


FIG. 2. — Coupe sagittale vers la région médiane d'une pupa de *Gl. palpalis* d'environ dix-huit heures, montrant l'exosmose d'une partie du plasma nourricier dans la cavité générale : s , paroi de l'anse principale du sac stomacal larvaire; p , portion centrale résiduelle, dense, du plasma nourricier, inapte à la dialyse; p' , portion périphérique du plasma déjà en partie diffusée dans la cavité générale; p'' , plasma d'origine stomacale, exosmosé et baignant les organes de la cavité générale. — Gr. 20.

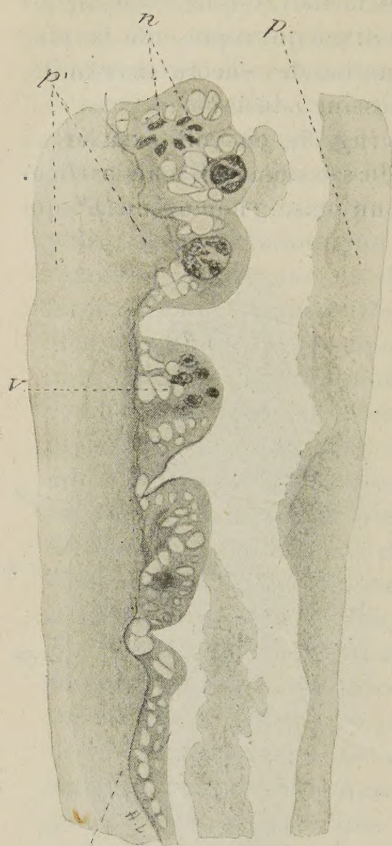


FIG 3. — Coupe au niveau d'une portion de la paroi du sac stomacal chez une puppe de quarante-huit heures, montrant l'assise épithéliale encore intacte en apparence, mais dont les cellules, moins distendues, ont déjà perdu beaucoup de leurs vacuoles graisseuses (*v*) d'absorption. Une notable partie du plasma nourricier *p* a diffusé de droite à gauche à travers l'assise épithéliale et baigne extérieurement (*p'*) la paroi stomacale qui le renfermait primitivement. Ce dépôt est plus dense au niveau de la basale et à l'intérieur des cellules, ce qui traduit la marche de la dialyse à travers la paroi cytoplasmique cellulaire. Fix. Brazil; color. Safranin or. — Gr. 450 env.

larvaire; mais il prend, soudain, chez la puppe en formation, une ampleur toute particulière.

S'agit-il d'une exsudation véritable, c'est-à-dire d'une simple filtration à travers des pores ou interstices de la paroi stomacale? C'est peu probable. Il s'agit plutôt, pour nous; puisqu'à ce moment la paroi épithéliale a conservé presque partout encore toute son intégrité, d'une dialyse de principes albuminoïdes solubles. On peut d'ailleurs noter dans le cytoplasme des cellules intestinales l'existence, et le dépôt vers la basale, d'une matière éosinophile particulière très finement granuleuse, qui traduit le passage à travers ces éléments histologiques des principes albuminoïdes provenant du plasma (fig. 3).

Mais pourquoi l'extension subite prise par ce processus de dialyse albuminoïde dans la puppe en formation? Sans doute correspond-elle à la cessation de l'activité propre des cellules épithéliales, activité qui, comme nous l'avons vu, se manifeste électivement pendant toute la vie larvaire dans le sens de l'absorption des corps gras. Cette activité cesse dès l'apparition des processus histologiques qui con-

damnent les organes caducs auxquels appartient l'assise épithéliale tout entière. Celle-ci, atteinte brusquement dans sa vitalité, ne joue plus alors d'autre rôle que celui d'une simple membrane osmotique à travers laquelle s'effectue d'une façon massive la dialyse, jusqu'alors très ralentie, des principes albuminoïdes solubles du plasma stomacal.

Chez le pou du mouton (*Melophagus ovinus*), Diptère pupipare typique, Berlese (1) a signalé une série de phénomènes qui concordent, dans leur expression générale, avec ceux que nous venons de décrire (2). Chez la pupe du Mélophage, d'après cet auteur, le contenu de l'estomac s'extravase sous la forme d'un plasma granuleux qui vient baigner tous les organes pour être ensuite repris par le corps adipeux. Ces phénomènes rentrent dans le processus général de fonctionnement trophique du tube digestif et du tissu adipeux, tel que le conçoit l'auteur italien, chez les larves d'insectes à la nymphose. Mais il fait allusion à une simple filtration mécanique de matières granuleuses. Or, ce n'est certainement pas sous cette forme, nous l'avons dit, que les choses se passent. La matière nutritive albuminoïde, qui remplit l'estomac des Glossines, paraît constituée par un mélange d'éléments dialysables et de principes insolubles. L'épithélium, dont l'intégrité anatomique est encore entière, permet la dialyse de la première catégorie de substances qui sont déversées par exosmose dans la cavité générale. Au fur et à mesure que s'effectue ce triage des principes albuminoïdes dialysables et assimilables, le reste de la masse nutritive, formé d'aliments indiffusibles, inabsorbables directement par les cellules, se réduit, en se concentrant de plus en plus. A la fin du troisième jour, l'exosmose de la totalité des éléments solubles étant terminée, la masse albuminoïde résiduelle non dialysable, qui reste contenue dans l'estomac larvaire, ne forme plus qu'un amas dense et compact, dont le volume n'excède guère le quart de la masse initiale.

Cet amas résiduel, inassimilable actuellement par l'organisme de la Glossine, ne subira plus avant l'éclosion de la mouche

(1) *Riv. di Patologia vegetale*, t. VIII, 1899.

(2) Chez l'*Hippobosque*, également pupipare, j'ai fait des constatations analogues. Il est superflu d'ajouter que tous les Diptères pupipares vrais doivent obéir aux mêmes particularités physiologiques générales de nutrition que les Glossines.

adulte, d'autres transformations qu'une concentration de plus en plus grande en un bloc éosinophile dur et homogène. Sa destinée est liée à celle de l'épithélium intestinal larvaire qui le renferme.

Ici, les phénomènes ne diffèrent guère de ce que les auteurs,



FIG. 4. — Coupe sagittale au niveau de l'intestin moyen d'une pupe de dix jours, montrant l'englobement par l'assise imaginale *i'* des restes de l'estomac larvaire exuvié et de son contenu *i*; *s*, fragment de la zone des symbiotes imaginaires.

d'une façon générale, ont signalé pour la métamorphose de l'intestin moyen des insectes. Il se produit, en effet, chez la pupa de Glossine, par le processus habituel que l'on connaît, notamment chez les larves de Muscides, depuis les travaux de Ganin, Van Rees, Kowalevsky, Pérez, etc., une *exsuviation totale* de l'épithélium larvaire.

Les petites cellules imaginaires émancipées des îlots de rem-

placement qui existent déjà, chez la larve, à la base de l'épithélium, comme chez les autres Muscides, s'organisent progressivement en une assise continue qui détache de la basale l'ancien épithélium larvaire, et le rejette avec son résidu alimentaire dans la lumière du nouvel intestin ainsi constitué (fig. 15, p. 523 et fig. 4, i).

L'ensemble résiduel constitué par le manchon épithélial larvaire et les restes du plasma éosinophile qu'il renferme est ainsi comparable au *corps jaune* des larves de mouches. Mais celui-ci est formé, comme le précise Ch. Pérez, exclusivement par des restes cellulaires, tandis que chez les glossines il s'y adjoint une quantité encore notable de matière nutritive.

Le résidu mixte épithélio-plasmatique de la nymphe des Glossines ne tarde pas d'ailleurs à se trouver plongé au sein d'une nouvelle matière fluide (fig. 15, p, d'aspect fibro-granuleux sur les coupes, épaisse, et à réaction assez nettement basophile, semblable à celle que Ch. Pérez signale chez les mouches à viande et qu'il interprète comme un produit de sécrétion des petites cellules intestinales.

J'y verrais plutôt, en raison de l'indifférenciation encore si grande de ces petites cellules imaginaires, dont le cytoplasme extrêmement vacuolaire ne témoigne guère d'une activité de sécrétion propre, un produit d'endosmose de substances émanant de la cavité générale, qui traversent par diffusion cette mince paroi cytoplasmique et progressivement se déposent dans la cavité intestinale au fur et à mesure que se produit l'allongement de la paroi épithéliale.

Vers le dix-huitième ou le vingtième jour, cette matière devenue peu à peu acidophile commence à disparaître, sans doute réabsorbée. Dans les anses intestinales antérieures les cellules s'affrontent à leur bord libre, tandis que, dans la région moyenne, l'épithélium est maintenant directement en contact avec le résidu éosinophile provenant du sac stomacal larvaire. Alors on assiste, dans toute l'étendue de l'intestin moyen, à un processus curieux d'émission de boules sarcodiques naturelles, que j'interpréterai comme un phénomène intensif de *renovation cellulaire autotomique*. Les petites cellules cubiques de l'épithélium imaginal s'étirent fortement en hauteur; leur région basilaire prend un cytoplasme dense, basophile, tandis

que leur extrémité distale est ampulleuse et formée de mailles inégales. Cette portion distale détache par pincements successifs de sa substance vacuolaire des sphères autotomiques de cytoplasme qui tombent dans la lumière intestinale (fig. 5, *b*;



FIG. 5. — Coupe au niveau d'une anse de l'intestin moyen imaginal chez une pupe de trente jours, montrant la rénovation autotomique, continue dans la partie antérieure et l'émission intense de boules de cytoplasme *b*, qui remplissent la cavité. La coupe passe par une des bandes de la zone des symbiotes *s*, à cellules géantes bien différenciées. — Gr. 100.

fig. 6). Toutes les cellules de l'épithélium réagissant ainsi, depuis le début de l'intestin moyen, simultanément, avec une activité extrême, rejettent dans la lumière intestinale une quantité considérable de ces sphères autotomiques. Celles-ci s'agregent les unes aux autres, perdent leur aspect vacuolaire initial en condensant leur substance; il se constitue ainsi, dans une notable partie de la lumière du tractus intestinal moyen, une nouvelle masse granuleuse plasmatique d'origine cellulaire qui sera ultérieurement digérée.

En même temps que se réalise cette curieuse épuration du cytoplasme, on assiste à la différenciation progressive des corps cellulaires de l'assise épithéliale qui prend son aspect définitif; le noyau se condense et s'étire en une sorte de larme, disposition que l'on constate chez l'adulte (fig. 6).

Dans l'intestin moyen nymphal de l'*Hyponomeute*, M^{me} A. Hufnagel (1) a récemment décrit et figuré des cellules en processus de sécrétion qui séparent de leur masse des boules de sécrétion éosinophiles, très compa-

(1) *Arch. Zool. Exp.*, t. LVII, pp. 47-202, 20 juillet 1918.

rables à celles que je mentionne chez la pupa de Glossines. Je ne crois pas, au moins ici, qu'il s'agisse d'un processus de sécrétion, parce que ce phénomène est généralisé à toutes les cellules de l'épithélium simultanément, qu'il coïncide avec des transformations cellulaires profondes et prélude à la différenciation définitive des éléments histologiques en question; d'ailleurs, chez la Glossine adulte, un tel processus, lorsque l'épithélium s'est constitué sous son aspect définitif, ne s'observe plus. Je crois qu'il faut l'interpréter comme un processus d'épuration cytoplasmique au même titre que les processus analogues de rajeunissement cellulaire par rejets de boules autotomiques, signalés par Ch. Pérez (1) dans certaines cellules des pupes de *Calliphora*, par E. Poyarkoff (2) chez la Galéruque, par M^{me} Hufnagel chez l'Hyponomeute. Mais chez la Glossine le processus offre une généralité et une ampleur infiniment plus grandes qu'on ne l'a constaté jusqu'ici.

L'évolution chez la nymphe de Glossine de l'épithélium imaginal comprend ainsi deux périodes bien tranchées, l'une assez longue, d'indifférenciation, au cours de laquelle les cellules, petites, cubiques, à cytoplasme vacuolaire, ne jouent sans doute qu'un simple rôle d'absorption à l'égard des substances dissoutes soit extra-, soit intra-intestinales; l'autre de différenciation active avec expulsion d'une partie notable de leur substance cytoplasmique.

Ces deux périodes ne correspondraient-elles pas au rappel cœnogénétique de la double mue épithéliale ancestrale des nymphes d'insectes? Au point de vue morphologique, cette hypothèse est séduisante; mais il me paraît plus rationnel de chercher dans ces faits une interprétation d'ordre physiologique ou physique: je pense que, dans la destinée de ces éléments cellulaires qui sont plongés au sein de liquides organiques dont la nature chimique varie selon l'état de la nymphe, les phéno-




FIG. 6. — Emission de sphérules autotomiques par les cellules de l'épithélium moyen imaginal. Pupa de vingt-cinq jours. — Gr. 400.

(1) *Loc. cit.*

(2) *Arch. Anat. micr.*, t. XII, 1910.

mènes osmotiques doivent jouer un grand rôle. En fait, l'émission des sphères cytoplasmiques intestinales donne singulièrement l'impression d'une plasmolyse naturelle des éléments épithéliaux. Or, il faut précisément remarquer que ce phénomène n'apparaît qu'avec la disparition du contenu intestinal. On ne l'observe pas dans les anses digestives encore chargées de résidus nourriciers ou d'autres substances de remplissage. Au début de la formation de l'intestin imaginal, la lumière de l'organe, comme nous l'avons dit, se remplit progressivement d'une substance épaisse, à réaction basophile, vraisemblablement d'origine coelomique. Lorsque cette substance a disparu, la concentration moléculaire du milieu n'est plus la même; et l'on conçoit facilement qu'il puisse en résulter une plasmolyse générale dont l'influence sera définitive sur la morphologie des éléments anatomiques?

Au fur et à mesure que la nymphose progresse, les restes provenant de l'estomac larvaire et de son contenu éosinophile cheminent vers l'arrière et passent à la partie postérieure de l'intestin moyen. Ils accusent un commencement de digestion vers la fin de la nymphose seulement.

Quant aux phases dernières de l'utilisation par l'organisme de la Glossine de ces résidus plasmatiques, ce n'est guère qu'après l'éclosion, lorsque l'épithélium imaginal a complètement achevé sa différenciation, qu'ils paraissent se produire. Il y a tout lieu de penser que c'est pendant la phase d'inanition précédant l'éclosion que ces déchets nourriciers sont repris et utilisés, au moins partiellement, par la mouche adulte, avec les différents vestiges de la différenciation intestinale imaginale.

B. — RÔLE DES LEUCOCYTES DANS LA NUTRITION NYMPHALE.

Nous avons vu que, chez la larve âgée, les leucocytes ont un rôle manifeste de mise en réserve temporaire et de dispersion générale des éléments graisseux qui saturent l'organisme. Leurs fonctions diffèrent ainsi nettement, quant à la nature du produit véhiculé, de celles que l'on observe chez les larves de mouches ordinaires, où ce sont des granules de nature albuminoïde qui, d'après les observations de Ch. Pérez, parsèment le cytoplasme des éléments migrants. On voit par là combien

la nature des réserves dominantes est différente chez les deux types de larves. La charge graisseuse des leucocytes (fig. 7), chez les Glossines, représente un des aspects par lesquels se traduit la saturation de l'organisme larvaire en matières grasses, comme conséquence de l'électivité d'absorption exercée par l'épithélium stomacal à l'égard de ces substances.

Ces fonctions de véhicule des matières grasses sont dévolues chez la larve de Glossine à tous les éléments migrateurs de la cavité générale, et non point seulement à certaines catégories d'entre eux, comme M^{me} A. Hufnagel l'a constaté par exemple pour les leucocytes à inclusions graisseuses de la larve de l'Hyponomeute. Ce sont là d'ailleurs fonctions particulières à la vie larvaire. Dès le début de la nymphose on les voit céder brusquement la place à une autre forme d'activité physiologique, la fonction phagocytaire, qui s'exerce en particulier à l'égard des muscles, de l'hypoderme et de certaines parties du tube digestif larvaire antérieur et postérieur. Le phénomène débute par certains des muscles, les plus périphériques, et s'accomplit suivant le thème classique qu'en ont donné pour les diptères Kowalevsky et Van Rees, sous l'inspiration des géniales découvertes de Metchnikoff et que Ch. Pérez a mis si minutieusement au point dans ses belles études sur la métamorphose des Muscides. Les leucocytes s'infiltrant par le sarcolemme, comme le décrit ce dernier auteur, disloquent les colonnes musculaires, fragmentent le sarcoplasme et se chargent de sarcolytes. Ils se transforment ainsi en ces volumineuses « sphères de granules » dont la nature et la signification physiologique sont aujourd'hui classiques chez les pupes de mouches. Suivant le type ordinaire, ces leucocytes repus émigrent activement dans toutes les régions du corps où se produit un travail intense de reconstitution imaginale, apportant ainsi directement aux éléments en histogénèse le concours de leur activité nutritive.

Il semble que, chez les Glossines, l'activité phagocytaire soit

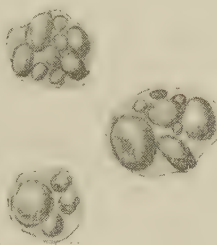


FIG. 7. — Inclusions graisseuses dans les leucocytes d'une larve âgée. Color. Soudan III. — Gr. 1650.

moins brutale, plus progressive, que chez les larves de mouches à viande. Un petit nombre seulement des muscles sont détruits dans les premières vingt-quatre heures de la nymphose; les autres ne disparaîtront que dans les jours qui suivent. En particulier, certains muscles de l'abdomen ne sont encore qu'à peine attaqués par les phagocytes le cinquième jour; ces muscles paraissent dégénérer spontanément avant d'être envahis par les éléments phagocytaires.

Cette sorte de gradation dans l'échelle de l'activité phagocytaire chez les Glossines permet de se représenter, comme non imputable directement à l'attaque des phagocytes, la destruction des organes qui sont appelés à subir l'histolyse. Je ne saurais penser, en effet, que l'afflux leucocytaire s'exerce réellement d'une manière primitive sur des organes normaux, de manière à en provoquer la destruction *per se* avant toute autre cause spontanée de dégénérescence. Il est plus vraisemblable que les organes ou les éléments histologiques appelés à disparaître meurent d'abord, ou subissent des modifications physiologiques, non décelables souvent par les réactifs histologiques, mais capables de provoquer l'afflux phagocytaire. S'il est difficile pour ceux des muscles périphériques qui subissent l'atteinte phagocytaire, dès les tout premiers moments de la nymphose, de déceler histologiquement une altération antérieure à l'infiltration des phagocytes, cela tient à ce que, la très grande majorité des phagocytes étant encore inemployés à cette époque, il se produit un afflux massif et accéléré de ces éléments vers les premiers organes affectés par la dégénérescence. Ultérieurement, comme le plus grand nombre des phagocytes encore disponibles se trouvent déjà repus de fragments musculaires, leurs mouvements de dispersion comme leur activité phagocytaire se ralentissent; c'est alors que l'on peut percevoir des signes indiscutables de dégénérescence (changement de colorabilité, perte de la striation des muscles, pycnose des noyaux) antérieurs souvent à toute infiltration leucocytaire, dans les éléments aptes à l'histolyse. Ce fait est notamment indiscutable pour les muscles abdominaux les plus tardivement atteints (5^e jour), qui se montrent transformés en masses plasmodiques, à la périphérie desquelles seules des sphères de granules ou leucocytes repus exercent une pression le plus

souvent purement extérieure, sans qu'il y ait encore traces d'infiltrations et de dislocations mécaniques subséquentes. Il est manifeste que l'activité ralentie des sphères de granules s'exerce ici sur des éléments atteints de dégénérescence spontanée. Le fait est non moins apparent pour des organes à histolyse tardive comme le rectum, où les sphères de granules, vers le cinquième jour, n'englobent progressivement encore que des fibres musculaires en partie modifiées.

Quoi qu'il en soit, le fait important à retenir au point de vue de la nutrition générale, consiste dans la mise en mouvement par les leucocytes d'une quantité de matériaux albuminoïdes provenant de l'élaboration des organes larvaires résiduels, et dans leur transport jusque dans les parties les plus reculées de l'organisme en histogénèse.

C. — ÉVOLUTION DU TISSU ADIPEUX.

L'élaboration des principes albuminoïdes nécessaires à l'histogénèse des nouveaux organes n'est pas uniquement le fait de l'activité leucocytaire. Le tissu adipeux joue également dans ce sens un rôle de toute première importance.

Le corps gras, chez les Glossines, obéit en effet, dans son évolution nymphale, au tracé qu'en a donné Berlese pour les différents types d'insectes en général et en particulier pour le Mélophage dont l'organisation pupipare nous rapproche très étroitement du type organique des Glossines. C'est ce tissu qui assure l'élaboration et la mise en réserve du plasma nutritif extravasé dans la cavité générale. Son rôle est ici des mieux marqués, en raison même de la grande quantité de matière nutritive albuminoïde qui vient le baigner et des transformations importantes dont consécutivement ses éléments histologiques sont le siège.

Ce qui frappe tout d'abord, au début de la formation de la pupe, c'est l'insuffisance notable de la mise en charge albuminoïde de ce tissu par rapport à ce qu'on observe chez les Muscides non pupipares (Calliphores d'après Pérez, Drosophiles d'après Guyénot, etc.) C'est, comme ailleurs, l'élément graisseux qui constitue le principe dominant de ces réserves. La graisse déposée dans de volumineuses vacuoles distend les cel-

lules (fig. 8, à gauche) et, seuls, un petit nombre de globules de nature albuminoïde sont visibles au moment de la nymphose dans les mailles du réseau cytoplasmique.

Mais, rapidement, lorsque le plasma nutritif issu de la cavité digestive s'est répandu dans la cavité générale, on voit les cellules adipeuses accentuer leur mise en charge et vers le cinquième jour une véritable poussière de granulations éosinophiles, mêlée à des globules plus ou moins volumineux, remplit le cytoplasme (fig. 8, à droite). Les vacuoles graisseuses persistent en partie, malgré cet apport de réserves

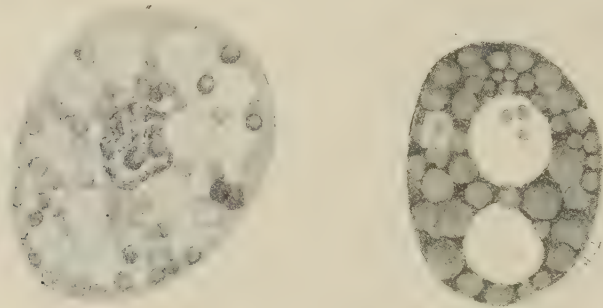


FIG. 8. — Deux cellules adipeuses nymphales de *Gl. palpalis*. A gauche, cellule d'une pupa en formation : grande abondance de vacuoles grasses, faible quantité de granules albuminoïdes. A droite, cellule grasse d'une pupa de cinq jours : la mise en charge albuminoïde est achevée; les vacuoles graisseuses ont diminué d'importance au profit des sphérules albuminoïdes très abondantes. — Gr. 560.

nouvelles et se maintiendront pendant toute la durée de la nymphose.

L'une des particularités qui distinguent le tissu adipeux, ainsi chargé de réserves albuminoïdes, de celui des mouches ordinaires, c'est, nous avons déjà insisté sur ce point, l'absence de granulations basophiles (pseudo-nuclei) mêlées aux granules éosinophiles ; il n'apparaît pas que ce tissu joue, chez les Glossines, un rôle d'accumulation des produits d'excrétion, au moins au début de la nymphose.

La phase de mise en liberté transitoire des éléments du corps adipeux, si générale chez les insectes pendant la métamorphose et qui concourt à la diffusion dans les différentes régions de l'organisme, des réserves nutritives, ne se manifeste chez les

Glossines que vers le cinquième jour, lorsque la mise en charge albuminoïde de ce tissu est achevée. Très rapidement d'ailleurs, les cellules adipeuses s'organisent par pression réciproque en une sorte de syncytium, et c'est sous cet aspect qu'on les observe pendant la majeure partie du temps nymphal. Progressivement, vers la fin de la nymphose, ces éléments s'étant déchargés d'une partie de leurs réserves reprennent sensiblement leur aspect initial du début de la nymphose. Au moment de l'éclosion un bon nombre d'entre les cellules grasses larvaires subsistent encore, avec des vacuoles graisseuses encore très abondantes. Leur désintégration ultérieure, comme chez les autres Muscides, appartiendra à la vie imaginale.

LES CONDITIONS DE LA NUTRITION CHEZ L'ADULTE

A la suite des transformations diverses que nous avons décrites pendant la vie nymphale se trouve constitué le tractus intestinal moyen des Glossines adultes, qui renferme les parties véritablement importantes pour la digestion et l'absorption des aliments ingérés. Il nous faut ici revenir sur la physiologie de la nutrition de ces mouches et sur les particularités morphologiques des différentes parties de leur épithélium intestinal sur lesquelles porte principalement l'intérêt des phénomènes de la nutrition.

RÉGIME ALIMENTAIRE. — Les Glossines sont des mouches à régime hémophage strict, absolu, dans les deux sexes, quelles que soient les circonstances de la vie. On ne saurait trop insister sur ce fait qui, pour nous, domine la question du rôle particulier d'hôtes intermédiaires joué par ces mouches à l'égard des trypanosomes pathogènes africains des zones où elles fréquentent. Tandis que les autres représentants de la tribu des Stomoxyides, alliés directement aux Glossines, sont en effet des mouches capables de puiser, en dehors du corps des hôtes, des liquides organiques variés, et de s'alimenter d'eau et de jus sucrés, les Glossines, dans les conditions naturelles, ne peuvent se nourrir que de sang prélevé à l'intérieur du corps des hôtes.

Tous les observateurs sont actuellement d'accord sur la question. Même épuisées par la soif et l'inanition, à la suite d'un séjour prolongé à une température plus élevée que leur moyenne habituelle, les Glossines ne cherchent point à se désaltérer comme le font les Muscides voisins, Stomoxes ou Lyperosies, lorsqu'on place des gouttes d'eau à leur disposition. Elles meurent si on ne les met pas à même de satisfaire leur appétit aux dépens du sang d'un vertébré, prélevé directement dans le corps, à travers la paroi cutanée, ou, comme l'ont montré Rodhain et ses collaborateurs (1), à travers une membrane animale.

Accidentellement, on pourrait cependant penser que dans la nature ces mouches, lorsqu'elles sont pressées par la faim, cherchent à piquer parfois certains invertébrés comme des chenilles ou d'autres larves d'insectes de forte taille, des mollusques, etc. Le fait peut être observé tout au moins en captivité. Mais les liquides organiques que les Glossines parviennent ainsi à puiser dans le corps de ces animaux sont en quantité si faible qu'ils ne sauraient suffire à entretenir la vie des tsétsés, même dans les conditions du laboratoire, ainsi que j'ai pu le constater (2).

D'autre part, si le sang des Vertébrés constitue le seul liquide nourricier susceptible, dans les conditions naturelles, d'entretenir intégralement l'existence de ces mouches, il faut encore distinguer à ce sujet entre le sang des vertébrés à sang froid et celui des mammifères ou des oiseaux.

Le sang des animaux homéothermes paraît être le seul capable de subvenir aux conditions physiologiques normales de la vie de ces mouches. Comme l'a vu, le premier, Kleine, et comme j'ai pu le vérifier après lui, les Glossines nourries sur des reptiles (varans, crocodiles, crapauds) peuvent vivre pendant un certain temps mais ne se reproduisent plus.

Ce fait permet de penser que le chimisme intestinal de ces mouches présente une très grande rigueur d'adaptation à l'égard d'un type d'aliments exclusif; le tube digestif des tsétsés ne peut digérer et absorber normalement que du sang et du sang de vertébrés à sang chaud. C'est là un remarquable

(1) *Rapports sur les travaux de la Mission scientifique du Katanga*, Bruxelles, 1913.

(2) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. IV, 1911, p. 544.

exemple d'adaptation parasitaire très étroitement définie chez un insecte piqueur qui, par ailleurs, manifeste une existence tout à fait indépendante de ses hôtes.

Par ce régime alimentaire hémophage exclusif, qui place les Glossines dans une dépendance parasitaire stricte à l'égard des vertébrés homéothermes, de même que par leur mode de développement pupipare qui apparaît également comme la conséquence de ce même régime alimentaire, ces mouches occupent une situation tout à fait à part, parmi les autres représentants du groupe des Stomoxyides. Il faut de plus concevoir, ainsi que nous l'avons dit plus haut, que le rôle particulier joué par les Glossines dans le cycle évolutif et la transmission des Trypanosomes africains relève aussi directement de l'exclusivité de leur régime alimentaire hémophage. La phase initiale de développement intestinal, qui dans la plupart des cas précède l'évolution terminale des flagellés dans le milieu salivaire des Glossines, n'est compatible apparemment qu'avec l'existence d'un milieu intestinal constant dans sa constitution chimique et qui ne saurait être brusquement modifié par l'ingestion de substances de nature variée comme c'est le cas pour les autres Stomoxyides.

On voit par conséquent quelle importance biologique et pratique revêt la question du régime alimentaire des Glossines adultes. L'intérêt de la question se précise en s'orientant d'une manière très spéciale lorsqu'on étudie comment se présente le fonctionnement de l'appareil digestif chez ces mouches.

MARCHE ET SIÈGE DE LA DIGESTION DU SANG. — Le sang fraîchement ingéré qui remplit l'intestin moyen des mouches adultes ne subit guère de transformations digestives nettes que dans la région postérieure de cet organe. Dans les deux tiers antérieurs environ du tractus intestinal moyen, l'épithélium digestif ne paraît pas exercer d'action digestive à proprement parler, tout au moins sur les éléments figurés. La masse sanguine qu'il renferme s'épaissit simplement et devient visqueuse, sans doute par absorption de l'eau dont la plus grande partie est rejetée au dehors peu de temps après la succion. C'est à ce simple rôle d'absorption des éléments liquides du sérum que paraît se borner, à ce niveau, l'activité de la muqueuse, dont l'action

digestive directe sur les éléments figurés n'est pas appréciable, et qui d'ailleurs ne traduit pas morphologiquement, dans les coupes, d'activité réelle de digestion. On peut cependant noter parfois, à la périphérie de la masse globulaire ingérée, un très léger début de digestion ; mais, avec Stuhlmann, j'en attribuerai la cause à des sécrétions diastasiques étrangères à l'épithélium lui-même, soit à des fermentations produites par des micro-organismes intestinaux ou à l'action du liquide salivaire.

Le fait certain, c'est que lorsque le sang, pour une raison quelconque, séjourne d'une façon prolongée dans les parties antérieure et moyenne de l'intestin moyen, il s'y maintient, sans modifications appréciables de la masse globulaire. C'est ce que l'on constate, par exemple, dans les accidents particuliers de la gestation qui s'observent souvent chez les Glossines en captivité et se traduisent par la transformation prématurée de la larve en nymphe dans l'utérus. L'impossibilité d'expulsion du produit, qui reste en partie engagé dans l'orifice vulvaire, détermine sur le tractus intestinal une compression artificielle qui entrave l'écoulement normal des matériaux de la digestion et provoque leur stase prolongée dans les régions antérieures de l'intestin moyen. On constate alors que le sang contenu dans ces parties, même au bout de trois ou quatre jours, n'a pas subi de transformations digestives réelles, mais s'est transformé en une masse compacte, par suite de l'épuisement plus ou moins total des liquides initiaux. Il y a eu absorption de ces derniers, mais non pas digestion à proprement parler de la masse sanguine.

La digestion n'est réalisée d'une façon complète que lorsque la masse sanguine ingérée a franchi la portion moyenne de l'intestin moyen abdominal.

C'est précisément la région où l'épithélium, jusque-là constitué par de petites cellules peu différenciées, présente brusquement une modification histologique curieuse, qui jusqu'ici paraît spéciale aux Glossines et sur laquelle nous devons nous arrêter longuement. L'auteur allemand Stuhlmann, dans son bon travail consacré particulièrement à *Gl. fusca* (*brevipalpis*) (1), a fait connaître l'existence, dans toute la longueur de

(1) *Arbeiten aus d. kaiserl. Gesundheitsamte*, t. XXVI, n° 3, 1907.

ce qu'il nomme l'intestin moyen (1) (Mitteldarm), d'une zone particulière suivant laquelle l'épithélium se trouve localement et irrégulièrement épaissi, présentant macroscopiquement des taches ou des bandes de couleur plus blanche que le reste de l'organe. Si l'on fait une coupe au niveau de ces taches, on reconnaît que l'épithélium y présente un aspect très différent de l'épithélium normal. Les cellules y sont de trois à cinq fois plus hautes que leurs congénères, et disposées de manière à former de volumineuses papilles qui font saillie dans la lumière de l'organe (fig. 9), occupant parfois plus de la moitié ou des deux

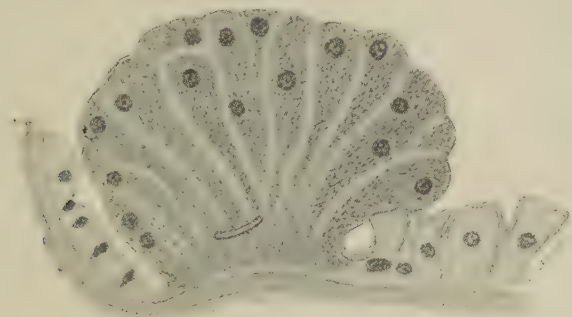


FIG. 9. — Coupe au niveau d'une papille à cellules géantes de l'intestin moyen (zone des symbiotes) chez *Gl. palpalis*. Fix. Brazil. — Gr. 350.

tiers du calibre de celui-ci. Le cytoplasme des éléments ainsi différenciés apparaît à un faible grossissement comme plus fortement colorable. Le noyau, qui occupe la partie *distale* au lieu de la base des cellules, n'est pas modifié, si ce n'est qu'il apparaît un peu plus volumineux que celui des cellules normales.

En examinant ces éléments hypertrophiés, à l'immersion, on les reconnaît bourrés de formations bacillaires de 3 à 5 μ de longueur moyenne, dont Stuhlmann ne précise pas la nature, mais qu'il interprète comme des *Symbiontes* jouant un rôle inconnu mais réel dans la vie des Glossines. Il remarque en effet que toutes les mouches examinées présentent dans les mêmes différenciations intestinales les mêmes « Symbiontes », et que

(1) Il s'agit, d'après la nomenclature de l'auteur allemand, de la portion moyenne de l'intestin moyen abdominal.

cette constance même doit écarter l'idée de parasitisme dans l'action physiologique de ces éléments. Il les rapproche des bactériodes ou bactérioides observés dans les œufs, la paroi intestinale, ou le corps graisseux de divers insectes, par nombre d'auteurs, notamment par Cuénot chez *Ectobia*, par Henneguy chez la Blatte, par Escherich chez l'*Anobium*, etc.



FIG. 10. — Une des cellules géantes plus grosses de la zone des symbiotes intestinaux chez *Gl. palpalis*. Le cytoplasme est bourré de levures intracellulaires; le noyau repoussé vers la partie distale de l'élément. — Gr. 4150.

Ces Symbiotes sont libérés par la désagrégation des cellules qui les renferment et s'observent à l'état libre dans la lumière intestinale de toutes les Glossines. Il est probable qu'ils se nourrissent du contenu intestinal et réinfestent ensuite d'autres cellules épithéliales lorsque dans les intervalles de la digestion l'épithélium est revenu au stade de repos.

Stuhlmann interprète les hautes cellules bourrées de Symbiotes comme jouant vraisemblablement un rôle dans la régénération de l'épithélium intestinal et il donne par suite le nom de zone de régénération aux régions de l'intestin ainsi différenciées. Sans se prononcer d'une façon ferme sur le rôle physiologique des micro-organismes qui les remplissent, il émet l'hypothèse que par leurs sécrétions diastatiques ils activent la régénération des cellules. Toutefois, la raison de la localisation de ces éléments suivant certaines zones cellulaires, lui échappe complètement et le problème de la signification de ces « zones de régénération » ainsi que celui de la nature de leurs Symbiotes reste entier.

Il est curieux que la question de l'intervention directe de ces « Symbiotes » dans la nutrition des Glossines ne se soit pas plus nettement posée pour l'auteur allemand, qui, à plusieurs reprises, parle de l'intervention symbiotique de bactéries dans la digestion sanguine et ne se prononce pas absolument sur le rôle digestif de l'épithélium

stomacal proprement dit. Sans doute est-ce parce qu'il a pu constater l'existence de ses Symbiontes chez des pupes encore assez éloignées de leur date d'éclosion et chez lesquelles le tube digestif n'était pas encore fonctionnel, ce qui semble écarter *a priori* l'idée d'une intervention de ces organismes dans la physiologie de l'épithélium intestinal des mouches adultes. Mais, dans ce cas aussi, une régénération aussi précoce de cet épithélium, suivant l'hypothèse de l'auteur, serait difficile à concevoir, si l'on admet avec Stuhlmann que les hautes cellules renfermant les Symbiontes représentent des zones de régénération épithéliale. Or, à bien examiner les choses, une semblable interprétation ne saurait se soutenir. Les cellules bourrées de bactéroïdes de l'intestin des Glossines représentent, en réalité, comme nous allons le voir, des cellules géantes qui n'ont aucun caractère commun avec celles du reste de l'intestin moyen. Mais il est nécessaire, pour se représenter leur rôle probable, de préciser tout d'abord leur nature, ainsi que celle des bactéroïdes qu'elles renferment et d'étudier leur origine, ou tout au moins leur localisation, aux stades antérieurs de la vie des Glossines.



FIG. 11. — Levures symbiotiques de *Gl. palpalis* sur frottis. Fix. osmique; color. Giemsa. — Gr. 1700.

NATURE DES ZONES DE RÉGÉNÉRATION. LES LEVURES SYMBIOTIQUES CHEZ LES GLOSSINES ADULTES (1). — Stuhlmann, qui a parfaite-

ment décrit et figuré les corps bactéroïdes observés par lui dans les cellules de ces zones de régénération, ne s'est pas prononcé avec précision sur leur véritable nature. Il les tient, il est vrai, pour des organismes spéciaux, mais il tend à les considérer comme des protozoaires d'un type particulier.

Ces éléments s'observent non seulement dans le cytoplasme des cellules hypertrophiées (fig. 9 et 10), où on les rencontre d'une façon constante, quelle que soit l'espèce de Glossine étudiée, mais aussi chez la plupart des Glossines, sinon chez toutes,

(1) J'exprime ici tous mes remerciements à M. Mesnil, qui a bien voulu m'assister dans l'identification de ces micro-organismes.

à l'état libre. On peut les retrouver dans la lumière intestinale, parfois à l'état de véritable culture. Il est plus facile de se rendre compte de leur morphologie par frottis de ces cultures, qu'en les colorant sur place à l'intérieur des cellules. Il ne saurait cependant y avoir de doutes sur l'identité des formes intra- ou extra-cellulaires.

Les bactéroïdes des Glossines sont des éléments mesurant de 3 à 5 μ , en bâtonnets plus ou moins rectilignes, souvent arqués et flexueux. Leur cytoplasme est vacuolaire; le noyau, difficilement visible dans les frottis colorés au Giemsa. Le fait fondamental, au point de vue morphologique, qui permet de fixer la nature de ces organismes est la formation de bourgeons typiques de levures (fig. 11). Il y a également reproduction par cloisonnement transversal. La formation d'asques ou d'ascospores n'a jamais été constatée.

Ces données permettent de fixer assez étroitement la position systématique de ces micro-organismes. Les bactéroïdes de l'intestin et des cellules intestinales des Glossines peuvent être considérés comme des levures; leurs affinités basées sur les caractères biologiques de multiplication par scissiparité et par bourgeonnement, les placent dans un groupe intermédiaire entre les Saccharomycètes et les Schizosaccharomycètes. Elles seraient par suite, on le voit, à rapprocher des *Cicadomyces* observés par Karel Sulc (1) et par P. Büchner (2) dans le pseudo-vitellus d'un certain nombre d'Orthoptères.

D'une façon générale d'ailleurs, les affinités de ces levures les rattachent biologiquement d'une manière très étroite aux Ascomycètes symbiotiques décrits et figurés par nombre d'auteurs chez des insectes divers, et notamment aux levures signalées en 1889 par Karawaiew (3) dans l'intestin d'un Coléoptère, l'*Anobium paniceum*, levures cultivées en 1900 par Escherich (4), ou aux levures de genres divers qui se développent avec une si remarquable constance dans des organes cœlomiques spéciaux (mycétomes de Karel Sulc), chez les Hémiptères homoptères. Les figures données par P. Büchner dans son travail d'ensemble

(1) Sitz. d. königl. böhm. Gesellsch. d. Wissenschaft, in Prag., 1910.

(2) Arch. f. Protistenk., t. XXVI, 1912.

(3) Biol. Centralbl., t. IX, 1899.

(4) Ibid., t. XX, 1900.

sur les Symbiotes intracellulaires des Hémiptères (1), notamment celles de la planche VI qui ont trait aux Mycétomes de *Cicada orni*, celles de Pierantoni (2) relatives à *Coccidomyces dactylopii* rappellent absolument l'aspect des levures intracellulaires des Glossines. Il faut remarquer que dans la plupart des cas chez ces levures symbiotiques intracellulaires la présence d'asques ou d'ascospores n'a pu être constatée. Le fait ne doit pas surprendre puisqu'il s'agit d'organisme purement symbiotique, à transmission héréditaire et qui ne passent jamais par suite dans le milieu extérieur.

Ainsi les cellules des zones de régénération de Stuhlmann, chez les Glossines, sont des cellules géantes bourrées de levures symbiotiques, comparables dans une certaine mesure aux cellules des mycétomes (mycétocytes de K. Sulc), connus chez les Hémiptères. Mais, à la différence de ce qui s'observe chez ces insectes dont les mycétomes sont essentiellement cœlomiques, les levures intracellulaires des Glossines peuvent être libérées, par la dissociation des éléments histologiques qui les renferment dans la cavité intestinale et s'y développe, librement.

La constance absolue des zones à mycétocytes chez toutes les espèces de Glossines observées par Stuhlmann et par moi, montre qu'il s'agit selon toute vraisemblance d'une transmission héréditaire. Mais l'auteur allemand, bien qu'ayant constaté l'existence de ces formations particulières chez des pupes encore éloignées de leur date d'éclosion, n'a pu remonter plus avant dans la genèse de ces curieuses zones. Quelle est la raison de leur localisation constante suivant une région déterminée de l'intestin moyen, que représentent physiologiquement ou morphologiquement les éléments si curieusement hypertrophiés de la muqueuse, c'est ce que je me suis proposé d'examiner.

Il est nécessaire pour cela d'étudier les stades larvaires et la métamorphose ; de rechercher l'existence en premier lieu des levures chez la larve, et de voir quelle est leur destinée au cours de la nymphose.

(1) Studien an intracellularen Symbionten. I. Die intracellularen Symbionten der Hemipteren. *Arch. f. Protist.*, t. XXVI, 1912, 112 pp.

(2) *Arch. f. Protist.*, t. XXXI, 1913.

LES LEVURES SYMBIOTIQUES CHEZ LA LARVE. — L'existence chez les larves de Glossines de levures intracellulaires correspondant à celles des zones intestinales hypertrophiées des mouches adultes n'a pas été mise en évidence jusqu'ici.

Elles y existent cependant, localisées comme chez l'adulte à l'intestin moyen, mais la région où on les rencontre, d'une manière absolument constante, quel que soit l'âge ou l'espèce de la larve, est bien différente de celle où elles se localisent chez les tsétsés adultes. C'est au niveau du *proventricule* larvaire qu'il convient de les rechercher. Encore ne les observe-t-on uniquement que dans les cellules de la membrane externe du cul-de-sac proventriculaire, à l'origine même de ce feuillet externe, c'est-à-dire dans une région où l'épithélium ne participe pas encore à l'absorption de la matière alimentaire. Le proventricule larvaire, petit renflement piriforme situé à la zone de jonction de l'œsophage et du sac intestinal (fig. 1, *P*), est en effet constitué comme chez toutes les larves de mouches par trois feuillets épithéliaux (fig. 12). Les deux plus internes paraissent appartenir au stomodœum ectodermique et doivent être compris comme résultant du reploiment du tube œsophagien, embouti sur lui-même de manière à former une valvule saillante à l'intérieur de l'organe. Le feuillet externe, c'est-à-dire celui qui constitue la paroi même du proventricule, se relie insensiblement à l'épithélium du sac stomacal. Comme il n'existe aucune ligne de démarcation précise entre les deux épithéliums à ce niveau et que les cellules de la paroi externe proventriculaire passent progressivement, en se chargeant plus ou moins de vacuoles graisseuses, au type habituel des cellules de l'intestin moyen, il y a lieu de considérer ce feuillet externe tout entier comme d'origine endodermique.

Or, les cellules à levures comprennent uniquement les cellules de la partie tout à fait initiale de ce feuillet, c'est-à-dire les plus rapprochées du fond du cul-de-sac proventriculaire (fig. 12, *z*). Ces éléments sont assez fortement distendus, par rapport aux éléments voisins, bien que leur hypertrophie ne soit nullement comparable à celle des zones à levures de l'intestin des adultes. Ce ne sont point des cellules géantes, mais des éléments dont la hauteur moyenne est cependant à peu près le double de celle des cellules voisines. Ces cellules à

levures se reconnaissent à la densité particulière de leur cytoplasme, assez fortement colorable parce qu'il est surchargé par les faisceaux pressés et compacts des levures symbiotiques, qui sont généralement orientés dans le sens de la hauteur des cellules.

Contrairement à ce qu'on observe dans les cellules à levures



FIG. 12. — Coupe axiale du proventricule larvaire montrant la zone des symbiotes *z*, constituée par les cellules du cul-de-sac proventriculaire externe; *l*, amas de levures libres dans la cavité; *v*, vacuoles graisseuses dont l'apparition dans les cellules traduit les fonctions d'absorption de la paroi, et limite l'extension des symbiotes. — Gr. 340.

de l'intestin adulte, le noyau est situé à la base des cellules.

Comme dans l'intestin des Glossines adultes, les levures se rencontrent aussi à l'état libre dans la lumière digestive; mais chez la larve on ne peut constater leur existence que dans le fond du cul-de-sac proventriculaire (fig 12, *l*). On voit des amas de

levures coiffer la surface libre des cellules mères, alignés en faisceaux plus ou moins denses qui s'allongent suivant le grand axe de la cavité. Il ne paraît pas douteux que ces éléments ne se répandent plus loin dans la lumière intestinale; il est infiniment probable qu'ils se mêlent plus ou moins intimement à la masse nourricière ingérée par la larve, mais il est impossible de les définir avec certitude au sein de cette masse nourricière.

• Nous avons dit que les cellules du feuillet proventriculaire externe participent insensiblement aux fonctions normales des cellules stomacales en se chargeant progressivement de graisse. Or, dès l'instant où la graisse apparaît avec quelque abondance dans ces éléments cellulaires (fig. 12, *v*), les levures ne s'observent plus dans le cytoplasme des cellules. Il faut donc en conclure que l'existence intracellulaire de ces éléments symbiotiques est incompatible avec la physiologie normale des cellules du sac stomacal, lesquelles, comme nous l'avons vu, sont exclusivement adaptées à des fonctions d'absorption. Au contraire, il y a lieu de considérer que les cellules à levures du cul-de-sac proventriculaire sont des cellules à fonctions apparentes de sécrétion. On doit leur attribuer la sécrétion de la membrane péritrophique, membrane mince, à fonctions peu définies, qui s'étend comme un tube étroit jusqu'à une certaine distance dans l'intérieur de l'estomac.

Que ces cellules proventriculaires exercent des fonctions de sécrétion digestive plus réelles, on ne saurait l'établir et il est infiniment vraisemblable qu'il n'en est rien. Mais on peut du moins poser ce principe que les levures symbiotiques n'intéressent que des cellules intestinales douées de fonction de sécrétion externe, et n'intervenant pas dans l'absorption de l'aliment. C'est là une notion qui n'est pas sans importance pour se représenter le mode d'intervention physiologique des micro-organismes symbiotiques en question.

L'existence constante de ces éléments symbiotiques chez les larves, même très jeunes, permet de penser qu'ils sont transmis soit héréditairement par la voie des œufs, à la manière des Symbiotes d'Hémiptères ou d'Orthoptères, soit plutôt par la sécrétion lactée maternelle. Mais mes recherches ne m'ont encore fourni, à cet égard, aucune indication précise. Je les ai vainement recherchés dans l'ovaire, les ovules ou les glandes

nourricières. Le cytoplasme des cellules de ces dernières présente, il est vrai, des différenciations qui rappellent assez des micro-organismes du type qui nous occupe. Et la localisation des levures à l'état libre chez la larve, à l'entrée même de l'intestin moyen, dans le retrait constitué par le cul-de-sac proventriculaire, est un indice qui plaiderait en faveur de l'origine alimentaire de l'infection des larves. Mais je ne saurais actuellement trancher la question avec certitude.

LES LEVURES SYMBIOTIQUES PENDANT LA NYMPHOSE. — Quelle est la destinée de ces éléments au cours des transformations nymphales? Tout d'abord il faut noter que les cellules du feuillet externe proventriculaire, en raison de leur origine endodermique même, participent à la délamination générale qui rejette en bloc l'intestin moyen larvaire dans la cavité du nouvel intestin. Cette délamination est précoce. On voit en effet, dès la fin du premier jour, les cellules à levures commencer à abandonner l'assise musculaire périphérique (fig. 13). Le deuxième jour elles sont pour la plupart complètement détachées de leur base et fragmen-

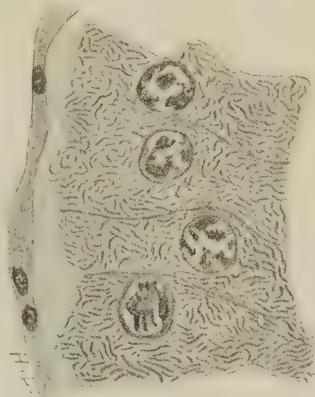


FIG. 13. — Fragment d'une coupe transversale au niveau de la zone des symbiotes proventriculaires, chez une pupa de vingt-quatre heures de *Gl. palpalis*. Les cellules à levures commencent à se détacher de la paroi musculaire du proventricule. — Gr. 830.

tées en boules de dimensions inégales (fig. 14), bourrées de levures, qui sont rejetées dans la lumière intestinale tandis qu'une nouvelle assise de petite cellules imaginaires s'est déjà complètement constituée à la périphérie. La délamination progresse donc ici plus rapidement que dans les régions plus reculées de l'intestin moyen et s'accompagne d'une dissociation mécanique des éléments histologiques.

Les levures symbiotiques sont rejetées dans la lumière intestinale en amas plus ou moins volumineux provenant de la désagrégation des cellules hôtes, quelques-unes également à l'état libre. Il se forme ainsi des amas denses de ces éléments

entre les cellules et la péritrophique. Que deviennent-ils ensuite, je ne saurais pour le moment le définir avec certitude. Mais il ne me paraît pas douteux que, contrairement à ce qui paraît se passer pour les Symbiotes d'Hémiptères, d'après les recherches récentes de P. Büchner (1), les levures chez les Glossines ne sont pas véhiculées par des mycétoytes, mais se répandent librement dans le contenu du tractus intestinal.

Celui-ci est constitué d'abord par les restes de la sécrétion nourricière ingérée antérieurement par la larve, puis par

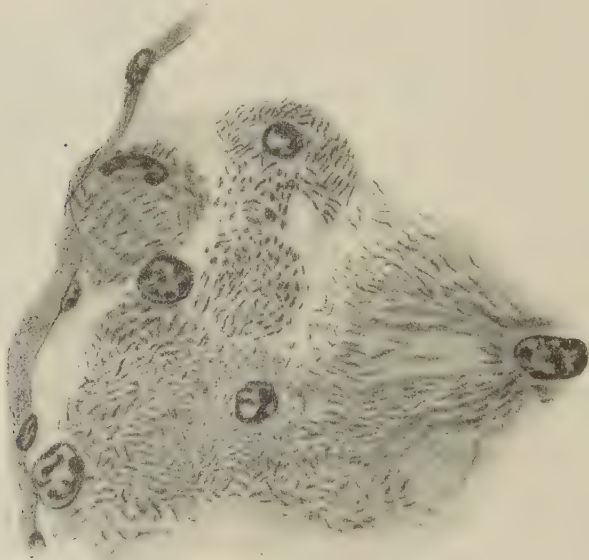


FIG. 44. — Dissociation de la zone des symbiotes proventriculaires chez une pupe de quarante-huit heures de *Gl. tachinoïdes*. Fragmentation des cellules et mise en liberté partielle des levures intracellulaires. Fragment de coupe transversale. — Gr. 850.

le plasma extérieur qui remplit, comme nous l'avons dit, la cavité du nouvel intestin, lorsque l'assise épithéliale imaginaire a achevé de se constituer. Il n'est pas facile de mettre en évidence avec certitude au sein de ces plasmas divers, denses, très colorables, des éléments à contour aussi peu défini que ces micro-organismes. Mais on les retrouve avec

(1) Studien an intracellularen Symbionten. II. *Arch. f. Protist.*, t. XXXIX, n° 4, août 1918.

certitude dès le quatrième jour, en nombre plus ou moins important, dans une zone très caractérisée du nouvel épithélium. On voit en effet (fig. 15), dès les premiers moments de la constitution de l'intestin imaginal, se différencier vers le tiers

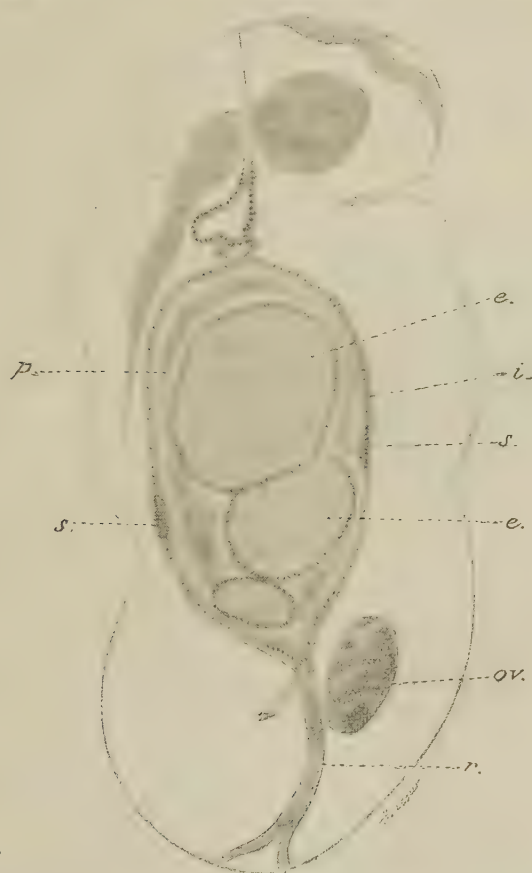


FIG. 15. — Coupe sagittale d'une pupa de *Gl. palpalis* au quatrième jour de la nymphose, montrant l'englobement des restes de l'estomac larvaire (*e*) par l'intestin moyen imaginal (*i*) et la différenciation précoce de la zone des symbiotes imaginaires suivant un anneau transversal *e, s, e*, restes de l'estomac larvaire et du plasma non diffusé englobés par l'intestin moyen imaginal *i*; *s*, anneau des symbiotes imaginaires; *p*, substance basophile de remplissage; *ov*, ovaire; *r*, rectum. — Gr. 30.

postérieur du nouveau sac intestinal (*i*), qui circonscrit complètement et englobe les restes de l'estomac larvaire (*e*), une sorte d'anneau épithélial (*s*) qui tranche nettement par sa

colorabilité plus intense et son épaisseur plus grande sur le reste de l'intestin. Cette zone s'étend transversalement et un peu obliquement par rapport au grand axe du sac intestinal.

Les cellules qui la constituent sont près de deux fois plus hautes, dans la partie moyenne de cette zone, que les autres cellules de l'épithélium imaginal. De plus, tandis que ces dernières ont un contour mal défini, montrent un cytoplasme extrêmement vacuolisé, peu chromatophile, et un petit noyau occupant le milieu de l'élément, les cellules de l'anneau des

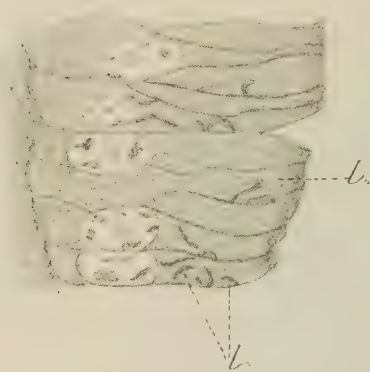


FIG. 16. — Coupe au niveau d'un fragment de l'anneau des symbiotes chez une pupa de quatre jours, montrant le début de l'envahissement des cellules glandulaires par les levures *L*. Certains éléments sont encore privés de symbiotes.
— Gr. 1350.

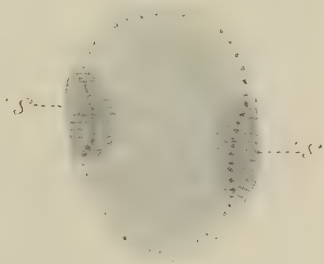
Symbiotes (fig. 16) ont un cytoplasme dense, fortement basophile, un contour très net, un noyau volumineux basilaire, pourvu d'un nucléole très apparent. Ces éléments cellulaires s'ouvrent individuellement par un prolongement tubuliforme dans la lumière intestinale. Il s'agit donc de cellules à fonctions glandulaires et l'anneau des Symbiotes représente dans sa totalité, à ce stade, une réunion de glandes unicellulaires spéciales groupées en une assise continue sur une faible épaisseur initiale.

Dès le quatrième jour de la nymphose on peut nettement retrouver les levures à l'intérieur du cytoplasme de ces cellules glandulaires (fig. 16, *L*). Elles y sont encore relativement peu nombreuses et certains éléments de la zone en paraissent même encore totalement dépourvus. Mais rapidement leur nombre s'accroît et en même temps les éléments qui les abritent perdent leur aspect initial. Le noyau d'abord basilaire devient sub-médian et le canal tubuliforme qui faisait communiquer librement ces éléments avec la lumière intestinale cesse d'être visible.

Pendant la majeure partie de la nymphose l'anneau des symbiotes reste à un état de développement médiocre. Il subit surtout, par suite de l'étirement du sac intestinal primitif et de la

formation des anses digestives, des déplacements résultant de l'inégalité de croissance ou d'allongement des parois intestinales. D'anneau transversal continu qu'il était primitivement, on le voit dès le dixième jour prendre une position manifestement oblique (fig. 4, s); il tend de plus en plus à se placer suivant la longueur du tractus intestinal, position qu'on lui constate chez l'adulte, et sa forme devient quelconque. Au quatorzième jour (fig. 17), une coupe transversale du tractus intestinal dans sa région moyenne montre la transformation de l'anneau en bandes longitudinales.

Ainsi se trouve progressivement réalisée l'apparente disposition en bandes longitudinales irrégulières que nous avons signalée chez la Glossine adulte.



LA NUTRITION SYMBIOTIQUE CHEZ LES GLOSSINES

POSITION DE LA QUESTION

Dans tout ce qui précède, nous avons sans hésitation utilisé le terme de Symbiotes pour caractériser les levures héréditaires, intra- ou extra-cellulaires, que nous avons signalées, à tous les stades de la vie, dans l'intestin des Glossines. La plupart des auteurs qui ont traité des Mycétomes d'insectes et des formations réactionnelles analogues, produites par des Ascomycètes ou d'autres micro-organismes de nature plus ou moins précisée, ont fait de même.

Cette question est actuellement très discutée. Nous avons été ramené par hasard, en étudiant le détail des phénomènes de la nutrition chez les mouches tsétsés, à poser à nouveau, au sujet de ces insectes, la question de la vie symbiotique. Examinons de plus près comment se pose cette question pour les Glossines et quels arguments nous pouvons apporter en faveur du rôle physiologique joué par les levures qui nous occupent dans la vie de ces Diptères piqueurs.

La compréhension du rôle physiologique des mycétomes

FIG. 17. — Coupe transversale d'une anse digestive de l'intestin moyen chez une pupa de quatorze jours, montrant la zone des symbiotes s agencée suivant deux bandes longitudinales symétriques. — Gr. 100.

d'Homoptères, mycétomes exclusivement cœlomiques, est évidemment complexe : aussi les interprétations des auteurs à ce sujet sont-elles très variées. Tandis que Karel Sulc leur accorde une action bactéricide, Pierantoni admet qu'ils exercent une action chimique sur les sucres absorbés ; et plus près de nous Portier (1) leur confère un rôle mixte de transformateur chimique, allié, conformément à sa théorie, avec celui de « fabrique de Symbiotes ».

Chez les Glossines l'interprétation paraît immédiatement plus facile, en raison de la localisation purement intestinale de ces levures. Les zones à levures de l'intestin de ces mouches ne sont pas rigoureusement comparables d'ailleurs, au point de vue anatomique, aux mycétomes cœlomiques des Hémiptères, formations réactionnelles spéciales constituées par des groupements de mycétocytes ou cellules à levures, sous une enveloppe commune. C'est avec les cellules à levures de l'intestin du Coléoptère *Anobium paniceum* que le rapprochement peut être le mieux établi. Chez cet insecte, comme chez les Glossines, les cellules à levures sont des éléments particuliers de l'épithélium appartenant à une zone bien définie de l'intestin moyen. Comme chez les Glossines aussi, ces levures passent de la larve à l'adulte, et l'importance de leur développement dans les cellules varie suivant les stades évolutifs de la vie de l'insecte. Ainsi qu'Escherich l'a fait remarquer, il existe, en effet, un rapport direct entre l'activité alimentaire du Coléoptère et l'abondance des levures, et cette constatation parle nettement en faveur du rôle joué par ces éléments dans la nutrition de l'hôte. C'est chez la larve, où l'activité nutritive est la plus grande, que les cellules à levures sont les plus développées. Pendant la nymphose, le tractus intestinal est au repos et les levures ne s'y observent plus qu'en petit nombre ; elles réapparaissent en plus grande abondance chez l'adulte, quoique moins développées que chez la larve, parce que l'activité nutritive de l'adulte est également moindre.

Chez les Glossines nous avons pu faire, on l'a vu, des constatations analogues : l'importance du développement intracellulaire des levures est en rapport étroit avec l'activité nourricière, et, on peut le préciser, avec le développement des sécré-

(1) *Les symbiotes*. Paris, Masson, 1918.

tions digestives. Chez la larve, nourrie d'un lait directement assimilable et chez laquelle, nous l'avons dit, l'épithélium digestif n'a pas à intervenir dans la préparation chimique de l'aliment, les levures symbiotiques ne s'observent qu'en quantité beaucoup moindre que chez l'adulte. La zone des mycéto-cytes proventriculaires est des plus restreintes, et ni la surface relative couverte par cette zone, ni le degré d'hypertrophie des cellules à levures ne peuvent se comparer à ce que l'on observe chez la mouche adulte. S'il est permis de parler du rôle joué par les micro-organismes dans les cellules proventriculaires des larves, ce ne peut être apparemment que d'une action irritative locale, qui concourt peut-être à activer la sécrétion péritrophique, mais qui est sans doute d'importance secondaire au point de vue de la nutrition générale.

Pendant la majeure partie de la nymphose, où l'activité digestive des cellules intestinales est pour ainsi dire nulle, où la sécrétion péritrophique est également abolie, l'importance prise par la zone des levures est encore moindre que chez la larve. Ce n'est que lentement, nous l'avons dit, qu'on voit se développer l'anneau des Symbiotes. Cependant, vers le dixième jour, il est possible de noter, exclusivement au contact des cellules à levures, des traces d'action digestive, s'exerçant aux dépens de la masse plasmatique qui remplit l'intestin moyen. La réaction colorante de cette substance passe brusquement d'une basophilie à une éosinophilie intense, mais seulement le long de la surface de contact avec les cellules à Symbiotes.

C'est surtout vers la fin de la nymphose (fig. 5) qu'on voit ces dernières manifester, sous la pression des levures, une hypertrophie marquée, contemporaine de la disparition complète du plasma intestinal et des transformations brusques corrélatives de l'épithélium, traduites par l'émission des boules autotomiques. Mais c'est seulement chez les mouches adultes, en cours d'activité nutritive, que l'hypertrophie des cellules à Symbiotes et le développement de la zone en question acquièrent toute leur ampleur.

Ainsi s'accuse déjà nettement la donnée suivante : c'est que le développement relatif des levures intracellulaires est lié chez les Glossines à l'activité de la digestion ; mais on peut aller plus loin encore.

Nous avons vu que chez la larve, comme chez l'adulte, les seules cellules qui sélectionnent les levures sont des cellules caractérisées morphologiquement par des propriétés particulières de sécrétion. Chez la larve, ce sont les cellules qui sécrètent la péritrophique; il n'y a point de chimisme intestinal manifeste, et les levures se cantonnent, en abondance assez restreinte dans des éléments faiblement hypertrophiés. Chez l'adulte, les seules cellules qui offrent un développement mycélien sont des cellules qui se distinguent de toutes les autres, dès le début de la nymphose, par une morphologie particulière, en rapport avec des fonctions glandulaires. Or, nous avons également constaté, en étudiant la digestion chez la mouche adulte, que toute la partie initiale de l'intestin moyen ne paraît pas agir sur la digestion du sang; mais que celle-ci se trouve réalisée brusquement d'une façon complète, lorsque la masse sanguine ingérée a franchi la zone des levures.

Et si l'on réfléchit au développement considérable pris par les cellules géantes, à l'ampleur des bandes hypertrophiées de la muqueuse qui font saillie dans la lumière intestinale, l'obstruant presque complètement par places, on conçoit que la suractivité des sécrétions de pareils organes puisse jouer un rôle important dans la digestion des mouches.

La multiplication des levures dans le cytoplasme des cellules géantes est telle que ce dernier est réduit à peu de chose et que chaque cellule géante, chaque mycétocyte, pour donner à ces éléments leur appellation réelle, représente un véritable sac à levures. Et, bien que le noyau hypertrophié, à nucléole volumineux, de ces curieuses cellules traduise une activité fonctionnelle intense, on peut se demander, étant donnée l'importance prise par la masse des levures dans le complexe cellulaire, si ce ne sont pas directement les diastases des levures qui réalisent par elles-mêmes la plus grande partie de la digestion du sang.

La question du rôle joué par ces éléments mycéliens dans la digestion sanguine ne saurait être abordée de façon plus précise pour le moment, en l'absence de données plus strictement expérimentales. Toutefois l'ensemble des observations que nous avons fait ressortir nous autorise déjà, pensons-nous, à conclure fermement à une Symbiose entre les Glossines et les

levures. On peut affirmer que les zones à caractère réactionnel de la muqueuse des tsétsés adultes, où ces micro-organismes s'observent d'une façon constante, jouent un rôle considérable dans la nutrition de ces mouches. Mais, à la lumière de données d'un autre ordre, il nous semble permis d'aller plus loin encore, et de concevoir les particularités d'hémophagie stricte et de pupiparité sur lesquelles nous avons précédemment insisté, comme une conséquence directe de leur vie symbiotique. Si les tsétsés sont devenues des Stomoxyides suceurs de sang exclusifs, si l'alimentation de ces mouches a pu se faire entièrement et exclusivement aux dépens du sang de certains types de Vertébrés supérieurs, si enfin leur développement a pris ce caractère si spécial de la pupiparité, avec toutes les conséquences adaptatives qu'elle comporte chez la mère comme chez le produit, nous pensons qu'il en faut chercher la raison dans les particularités d'un chimisme intestinal où se retrouvent comme éléments importants, sinon fondamentaux, les sécrétions diastiques des levures symbiotiques.

La question de la vie symbiotique des Glossines, telle que nous venons de la poser, ouvre ici des horizons biologiques d'une ampleur considérable, et qui dépassent un simple intérêt de curiosité. Tout d'abord, l'adaptation au régime sanguivore exclusif a eu, en effet, comme nous l'avons indiqué plus haut, des conséquences redoutables au point de vue de la transmission élective par ces mouches d'un grand nombre de trypanosomes pathogènes africains. S'il faut chercher dans l'association symbiotique des Glossines avec certaines catégories de levures, le déterminisme de leur régime alimentaire, il faudra également, par suite, rapporter à ce type de Symbiose toutes les conséquences pathologiques qui dérivent de l'adaptation au régime hémophage pur. Dans ces conditions, ce n'est plus aux mouches tsétsés seules qu'il faudrait relier le cycle néfaste des agents des trypanosomiasés, mais bien à l'association symbiotique levure-glossine, telle que nous l'avons définie.

Le régime hémophage pur paraît avoir eu d'autre part, pour les mouches en question, une autre conséquence biologique, d'importance pratique moins grande, mais qui se relie à tout ce que nous venons de dire, au sujet des phénomènes de la nutrition. Il semble avoir déterminé la *pupiparité*, c'est-à-dire

le développement intégral des larves, en petit nombre, dans l'utérus maternel, aux dépens de sécrétions exagérées des glandes annexes, avec toutes les conséquences précédemment passées en revue, qu'un semblable régime alimentaire a pu présenter pour l'évolution des larves et des pupes. Le cycle des phénomènes biologiques qui ont permis l'avènement de ce type de développement pupipare, ayant sa base même dans l'alimentation intensive du parent, il peut être conçu comme une conséquence secondaire de la nutrition symbiotique. Si cette conception, comme les précédentes, est exacte, on devra retrouver chez les autres Diptères pupipares des associations symbiotiques nutritives analogues à celles des tsétsés, et, au contraire, constater leur absence chez les diptères piqueurs non pupipares, en particulier chez les Stomoxyides, les plus directement alliés aux glossines, mais non doués d'hémophagie stricte et de pupiparité. C'est ce que nous allons examiner avec quelque détail, parce que c'est là, croyons-nous, que réside le point crucial de notre démonstration.

Les mouches tsétsés ou Glossines occupent biologiquement une situation tout à fait à part dans la série des Diptères. Si, par leurs caractères extérieurs, ces mouches se rattachent indiscutablement à la tribu des *Stomoxyides*, dont le type le plus répandu n'est autre que le Stomoxe ordinaire des écuries, par leurs conditions de nutrition et de développement elles sont au contraire infiniment plus voisines du groupe hétérogène des *Pupipares*, qui, très différenciés par leur vie parasitaire exclusive, ne paraissent offrir morphologiquement aucun lien de parenté directe avec les Glossines. Pour la thèse qui nous occupe, l'étude comparative des représentants de ces groupes divers de diptères hémophages, pupipares ou non, offre, on le conçoit, un intérêt de premier ordre.

J'ai étudié avec soin, pour y rechercher la présence de formations mycéliennes comparables à celles des Glossines, le tractus intestinal de Diptères hémophages variés, non pupipares : Culicides, Tabanides, larves d'*Auchmeromyia luteola*, Stomoxes, *Lyperosia*. Chez aucun de ces insectes, je n'ai pu constater l'existence de Schizomycètes intestinaux intracellulaires et constants.

Tous ces diptères s'alimentent de sang, mais aucun d'une

façon exclusive. Examinons, en particulier, à ce point de vue, le cas des Stomoxyides non pupipares (Stomoxes, *Lyperosia*) qui sont les Muscides les plus manifestement voisins des Glossines.

Le tractus intestinal des Stomoxes et des *Lyperosia*, bien qu'il ne présente aucune trace de formations réactionnelles à levures symbiotiques, est apte à la digestion complète du sang ingéré. Mais, si l'on étudie avec soin les besoins alimentaires réels de ces Muscides, on constate que si une alimentation sanguine leur est nécessaire, elle ne leur est point *suffisante* pour vivre. Peu de temps après s'être gorgés de sang sur un hôte mammifère habituel, les Stomoxes et les *Lyperosies* recherchent l'eau avec avidité. Privées de la possibilité de se désaltérer, ces mouches s'alimentent difficilement et souvent n'achèvent pas la digestion totale de la masse de sang qu'elles ont ingérée; elles meurent au bout d'un temps plus ou moins long, et l'on constate fréquemment dans ce cas que la digestion n'a pas été complète : il reste encore des globules inaltérés dans le tractus intestinal moyen. Si, au contraire, on leur fournit de l'eau en suffisance, on peut les conserver, sans réitérer l'alimentation sanguine pendant plusieurs jours.

Ainsi, la quantité d'eau puisée dans le sang par ces insectes ne leur suffit pas normalement pour vivre; il est indispensable qu'ils en prélèvent encore à l'extérieur. Et ce que nous venons de dire au sujet des Stomoxes est également vrai pour les Moustiques, et sans doute aussi pour tous les autres Diptères hémophages non pupipares. Résumons en disant que l'absence de symbiotes s'allie avec la non-exclusivité du régime sanguivore et l'absence de pupiparité.

Examinons maintenant le cas des Diptères autres que les Glossines qui appartiennent à cette dernière catégorie biologique.

Le groupe des Diptères pupipares est manifestement un groupe hétérogène comprenant des Diptères d'origine variée qui offrent en commun, par convergence, les caractères de l'hémophagie stricte et de la pupiparité, tels que nous les avons définis chez les Glossines. Mais l'adaptation de ces pupipares à la vie plus ou moins permanente sur le corps de leurs hôtes vertébrés les éloigne des Glossines, mouches moins avancées dans leurs adaptations parasitaires et qui ont conservé l'existence à l'état libre des autres Stomoxyides. Si, biologiquement,

les phénomènes de la pupiparité sont liés à l'hémophagie stricte, et si celle-ci n'a été rendue possible chez les Diptères supérieurs que grâce à l'association symbiotique avec certains micro-organismes, on devra, disons-nous, retrouver chez les Pupipares typiques des conditions d'association symbiotique superposables à celles observées chez les Glossines.

Or, précisément dans un travail récent consacré à l'étude des Rickettsia de l'intestin des Mélophages (1), H. Sikora signale accessoirement l'existence constante, chez ces Pupipares, entre le premier et le deuxième quart de l'estomac, de places particulières où l'épithélium est « extraordinairement développé » ; ces cellules renferment de grandes quantités de *formations se colorant en rose au Giemsa*, et qu'il tient « pour des parasites semblables à ceux que Stuhlmann a décrit chez *Glossina* ». Cette appréciation, que j'ai pu vérifier directement, est exacte.

En examinant aussi le tractus intestinal d'un autre Pupipare, voisin des Mélophages, le Lipoptène du cerf, j'y ai retrouvé sans peine des formations à cellules géantes comparables à celles des Glossines adultes. Le matériel dont je me suis servi ayant été fixé imparfaitement à l'alcool, je n'ai pu étudier plus à fond les levures symbiotiques, mais il n'est pas douteux qu'il ne s'agisse d'organismes très voisins de ceux des tsétsés. Enfin, examinant un troisième type de Pupipares, l'Hippobosque des chevaux (*H. equina* L.), j'ai constaté l'existence, également chez ce diptère, d'une quantité énorme de levures symbiotiques intestinales intracellulaires. Ces micro-organismes se présentent sous un aspect indiscutablement identique à celui que l'on observe chez les Glossines. Il est facile de les étudier à l'état frais et sur frottis. Je ferai connaître ultérieurement, avec plus de détails, les caractères particuliers de la symbiose chez ces différents Pupipares.

Ainsi, trois Pupipares types, pris au hasard, n'ayant morphologiquement aucune parenté immédiate avec les Glossines, révèlent l'existence, conformément à l'hypothèse émise plus haut, de l'association symbiotique et de ses conséquences immédiates : l'hémophagie et la pupiparité. Le problème nous apparaît donc comme résolu. Nous pouvons affirmer la généra-

(1) *Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, t. XXII, n° 24, déc. 1918, p. 444.

lisation de processus symbiotiques semblables chez tous les Diptères présentant des conditions de nutrition et de reproduction analogues à celles que nous avons étudiées chez les mouches tsétsés.

Tous les Diptères à reproduction *Pupipare* sont pourvus de *Symbiotes intestinaux* et doués d'*hémophagie stricte*. Ces trois caractères biologiques sont nécessairement liés l'un à l'autre. Il est désormais facile de se représenter le rôle des levures symbiotiques dans la vie de ces différents diptères piqueurs.

En premier lieu, il faut concevoir l'hémophagie stricte comme dépendant nécessairement de la présence des Symbiotes. C'est grâce à l'intervention de ces micro-organismes dans la digestion du sang que les diptères peuvent trouver exclusivement, dans le sang lui-même, les éléments de l'eau en quantité suffisante pour leurs besoins physiologiques. On peut admettre l'existence de diastases sécrétées par les levures qui concourent à assurer assez rapidement la digestion des albumines et des éléments figurés du sang, pour que l'organisme du diptère puisse y rencontrer la totalité des éléments nécessaires à son existence. C'est vraisemblablement à ce rôle que se réduit l'intervention symbiotique des levures ; mais ce rôle est indispensable.

L'hémophagie *stricte* des mouches piqueuses n'est possible que grâce à la Symbiose. C'est une *hémophagie symbiotique*.

En second lieu, la pupiparité paraît découler nécessairement de ce régime hémophage strict ou symbiotique. Il est facile de concevoir qu'un tel régime, qui garantit à l'organisme de l'insecte une alimentation uniforme, exceptionnellement riche et facile, a pu permettre le développement exagéré des glandes utérines dont les sécrétions accrues à l'excès ont rendu possible le développement utérin des larves. Enfin, n'étant plus astreints à trouver en dehors des hôtes le complément d'eau propre à assurer leur vie normale, les diptères piqueurs pourvus de symbiotes ont pu vivre de plus en plus étroitement aux dépens de certains hôtes vertébrés. D'abord librement, comme les Glossines, qui en dehors de leurs prises de sang vivent complètement indépendantes des hôtes, puis de plus en plus étroitement. Ainsi a pu se réaliser cette remarquable série adaptative que nous offrent, dans le sens de l'Ectoparasitisme, l'ensemble des Diptères Pupipares, chez lesquels on peut suivre

de façon si complète, avec l'atrophie progressive des ailes et la dégradation parasitaire croissante, une modification si complète du type de la mouche.

CONCLUSIONS

Nous nous sommes efforcé de dégager, dans le cours de cette étude, l'ensemble des particularités offertes chez les Glossines à tous les stades de la vie par les phénomènes de nutrition et le fonctionnement des organes digestifs. Les données acquises constituent un ensemble, dont il est permis de déduire des conséquences, à la fois d'ordre biologique et d'ordre pratique, dignes d'intérêt. Résumons-en les traits principaux.

En raison de l'adaptation à la pupiparité, phénomène qu'on peut concevoir comme lié au régime hémophage strict et exclusif, la larve est nourrie dans l'utérus par une sécrétion lactée dont les principaux éléments sont directement assimilables. Aussi l'épithélium digestif n'a-t-il pas à intervenir dans la transformation digestive préalable de l'aliment. Il borne son activité à l'absorption des produits nourriciers. Mais, pendant toute la vie larvaire, cette activité se porte bien davantage sur l'absorption des substances grasses contenues dans l'émulsion nourricière, que sur celle des substances de nature protéique. Il y a ainsi saturation précoce de l'organisme en matières grasses, et insuffisance notoire dans la mise en réserve des éléments albuminoïdes, pendant la période larvaire. Tout se passe comme si, malgré son alimentation intensive, la larve de Glossine, en raison de la priorité d'absorption des matières grasses, par son épithélium digestif, voyait la majeure partie de son aliment protéique demeurer extérieur à son organisme, condamné à une stase pure et simple dans la cavité stomacale.

Lorsque la larve quitte l'utérus maternel, cessant ainsi de recevoir de nouvel aliment, l'épithélium digestif a achevé d'épuiser les matières grasses contenues dans la cavité stomacale, et seulement alors peut se produire, sans doute par un simple phénomène de dialyse, l'absorption massive des principes albuminoïdes solubles qui surchargent cette cavité.

Le début de la nymphose correspondrait donc, au point de

vue du fonctionnement de l'intestin moyen, à la période de jeûne physiologique pronymphal des larves de mouches ou asticots ordinaires. C'est la période au cours de laquelle le tractus intestinal achève l'absorption des aliments ingérés. Cette période, chez les Glossines, se trouve retardée, pour les raisons physiologiques ou plus simplement physiques que nous avons exposées. Elle prend place dans les deux ou trois premiers jours de la nymphose. Malgré les apparences, c'est là un fait qui retentit fortement sur la marche générale des métamorphoses, parce que ses conséquences physiologiques sont très profondes. L'obligation où se trouve un organisme en pleine crise physiologique, d'assimiler et d'élaborer une masse très considérable de matière nutritive, alors que les échanges circulatoires sont nuls, les phénomènes respiratoires singulièrement compromis, ne va pas sans apporter à la marche normale du processus nymphal une complication redoutable. Celle-ci se traduit, à la fois, par une augmentation sérieuse dans la durée de la nymphose et aussi par une diminution marquée dans la résistance vitale des pupes.

La durée de la nymphose est, chez les tsétsés, près de cinq fois plus grande pour la même moyenne thermique que celle des mouches vulgaires. D'autre part, comme nous l'avons montré, les pupes des Glossines sont des pupes fragiles, ne s'accommodant que d'une température sensiblement égale, et ne résistant pas à des écarts thermiques fréquents. En particulier, toute élévation, même légère, de leur moyenne normale compromet leur existence. Ne faut-il pas voir dans la rigueur de cet accommodement à une température donnée la conséquence même de la complexité particulière des phénomènes physiologiques dont l'organisme nymphal des tsétsés est le siège? Et nous trouvons ainsi, dans l'étude des processus spéciaux de la nutrition, pendant la métamorphose, un appui logique en faveur de la méthode rationnelle de destruction des pupes par la chaleur solaire, telle que nous l'avons préconisée. Le principe de l'éclaircissement des gîtes, renforcé par les considérations qui précèdent, reste la base fondamentale des mesures d'action à prescrire contre ces redoutables insectes.

Au point de vue biologique pur, enfin, l'étude des conditions de la nutrition chez les adultes fait ressortir des faits curieux,

dont la portée dépasse aussi sans doute les limites de la science pure. Ces mouches particulières, qui représentent, quoique vivant à l'état libre, des parasites aussi profondément et entièrement adaptés à la nutrition sanguine que des ectoparasites permanents, doivent l'exclusivité de leur régime alimentaire hémophage à une symbiose étroite avec des levures intra- et extra-cellulaires, qui se développent dans une zone spécialisée de l'intestin moyen. Cette association symbiotique, que nous avons d'autre part trouvée constante chez les diptères qui participent aux mêmes conditions de développement que les Glossines, permet de comprendre, du même coup, toutes les singularités d'adaptation biologique de ces mouches : d'abord, au sens général, la *pupiparité* avec toutes les conséquences qu'elle comporte au point de vue du mode de développement des larves, et de la marche de la nymphose ; ensuite, comme conséquence d'un régime alimentaire exclusif (*hémophagie stricte*) aux dépens du sang des vertébrés, le rôle particulier que les tsétsés jouent dans le cycle évolutif des trypanosomes et des parasites sanguicoles variés. Tous ces faits se relient entre eux les uns les autres, à tel point qu'il nous paraît permis de définir toutes les particularités biologiques générales des tsétsés, et celles des Diptères Pupipares typiques, comme la résultante plus ou moins directe de leur vie symbiotique avec des micro-organismes intestinaux du groupe des levures.

L'ANTISEPTISATION DES VÊTEMENTS DU COMBATTANT

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

par F. HEIM, E. FERNBACH et G. RULLIER.

On admet sans conteste aujourd'hui que le projectile, non infectieux par lui-même, en entraînant des fragments de vêtements souillés, fait pénétrer dans la plaie un grand nombre d'agents pathogènes et détermine ainsi le plus souvent l'apparition de deux des complications les plus redoutables des blessures de guerre : la gangrène gazeuse et le tétanos.

Le nettoyage précoce de la plaie, l'injection de sérum antitétanique pratiquée le plus rapidement possible après les blessures ont été préconisés et ont fait leurs preuves ; mais lors des dernières opérations militaires, la guerre de mouvement ayant fait sa réapparition sur les champs de bataille, l'exécution de ces deux méthodes fut rendue plus difficile, et l'infection des plaies de guerre qui avait à peu près disparu pendant la guerre de tranchées reprit une croissante intensité.

Devant cette recrudescence, l'étude de nouveaux procédés prophylactiques s'imposait et l'on songea à imprégner directement les vêtements de substances antiseptiques.

Divers essais tentés dans ce genre par Mary Davies et Taylor (1) avec le pixol (mélange de crésol et de savon noir) avaient donné d'excellents résultats sur des infections variées.

Carnot (2), avec des savons de cuivre et de zinc, a obtenu les mêmes succès sur les agents de la suppuration, le perfringens, le tétanos.

(1) L'antiseptisation des vêtements militaires comme moyen prophylactique de l'infection des plaies de guerre, par M^{lle} MARY DAVIES, bactériologiste au Robert Walton Goelet Research Found, hôpital militaire VR 76, à Ris-Orangis (*Archives de Médecine et de Pharmacie militaires*, 1916, p. 227).

(2) CARNOT. Du rôle des vêtements dans l'infection des blessures de guerre ; essais de prophylaxie par antiseptisation des vêtements (*Archives de Médecine et de Pharmacie militaires*, août 1916, p. 221).

On s'explique mal pourquoi ces travaux n'ont pas été poursuivis.

En présence de l'indéniable importance de la possibilité d'antiseptiser les vêtements d'uniforme, nous avons résolu de reprendre la question du point de vue expérimental.

Nos premières investigations portèrent sur l'action d'un seul antiseptique, le naphtolate de soude, vis-à-vis : 1° des microbes habituels d'une étoffe portée pendant un séjour prolongé dans la zone de combat; 2° vis-à-vis de drap souillé avec les microbes de la gangrène gazeuse expérimentale.

Le résultat obtenu dans cette première série d'expériences (retard de 24 heures sur les témoins dans l'éclosion des phénomènes infectieux) nous incita à tenter de nouvelles recherches sur des antiseptiques à la fois moins coûteux et plus actifs.

Leur exposé fait l'objet du présent mémoire.

CHOIX D'UN PRODUIT ANTISEPTIQUE.

Si les substances antiseptiques sont fort nombreuses, les conditions toutes particulières que nous imposait le problème dont nous cherchions la solution devaient limiter notre choix.

Il fallait, en effet, que le ou les produits employés fussent à la fois d'un prix de revient minime, non toxiques pour l'individu, à la dose nécessaire pour arrêter ou retarder l'infection, non irritants pour les téguments externes, sans action nuisible sur les étoffes, et enfin, d'un pouvoir antiseptique élevé.

Les produits auxquels nous nous sommes adressés sont :

1° L'huile de houille, distillant entre 240° et 270°, soit seule et solubilisée sous forme de savon, ou au moyen d'un de ses solvants naturels, tétrachlorure de carbone, etc., soit additionnée d'un autre produit antiseptique, bichlorure de mercure, acide benzoïque ;

2° L'acide hydrofluosilicique, également soit seul, soit additionné de bichlorure de mercure.

Ce produit nous fut indiqué par M. le professeur Fernbach, chef de service à l'Institut Pasteur, qui nous fit connaître le rôle important joué par cet antiseptique dans les industries de fermentation.

Pour des raisons que nous exposerons en détail plus loin,

il nous a paru avantageux de faire sur la même étoffe deux imprégnations successives avec les deux produits qui nous avaient donné les meilleurs effets.

Les draps ont alors été traités d'abord, par l'acide hydrofluosilicique, puis séchés et après dessiccation par le mélange huile de houille, bichlorure de mercure.

L'huile de houille qui a servi à nos expériences pèse 4° Baumé.

L'acide hydrofluosilicique pèse 8° Baumé, ce qui correspond sensiblement à une solution à 7 gr. 5 p. 100.

Le bichlorure de mercure ajouté à l'huile de houille est employé au titre de 1/4.000. Quant à l'acide benzoïque nous n'en dirons que peu de mots, la cherté de son prix devant le faire écarter; toutefois nous mentionnerons les résultats observés dans les expériences exécutées avec ce produit. Son titre dans nos solutions est de 1 p. 100.

De même nous éliminons volontairement de ce travail toutes les recherches d'ordre pratique sur la solubilisation de l'huile de houille.

Forcés de nous limiter, nous ne ferons que résumer en quelques tableaux nos principales expériences tant en ce qui concerne la gangrène gazeuse que le tétanos; et nous passerons sous silence toutes celles qu'il nous a fallu exécuter en vue de déterminer les doses mortelles de cultures microbiennes dont nous nous servions pour souiller nos draps, ainsi que les doses actives des substances antiseptiques.

EXPÉRIENCES SUR LA GANGRÈNE GAZEUSE EXPÉRIMENTALE

1° CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR L'ÉTIOLOGIE DE CETTE INFECTION. — Les travaux récents sur cette complication des plaies de guerre prouvent que la gangrène gazeuse est le fait d'une association microbienne. Les agents pathogènes sont apportés, avons-nous dit, par la boue, le fumier, les débris vestimentaires, mais leur développement est favorisé par certains facteurs mécaniques dont les principaux sont : les grands délabrements musculaires accompagnés ou non de lésions osseuses et vasculaires, surtout lorsque ces dernières portent sur les gros troncs artériels.

Dans la technique de nos inoculations nous avons donc dû tenir compte de ces facteurs mécaniques.

Il reste cependant bien entendu que nos expériences ne portent que sur la gangrène gazeuse expérimentale, provoquée par l'introduction dans les plaies de débris vestimentaires souillés et s'accompagnant de lésions graves de la région inoculée.

Les autres cas, où la plaie est directement infectée par de la boue ou du fumier, n'ont pas été envisagés dans ces expériences qui démontrent sans doute la possibilité de retarder ou même d'empêcher la gangrène gazeuse expérimentale, mais qui ne prouvent pas du tout, si notre méthode entre dans la pratique, que l'on voit disparaître complètement cette infection chez les blessés.

2° TECHNIQUE DE L'INOCULATION. — L'animal dont nous nous sommes servis est le lapin. Il aurait été, il est vrai, préférable d'user du cobaye et bien des tâtonnements auraient pu ainsi être évités. La rareté de ce dernier animal sur le marché nous a cependant obligés à faire usage du lapin.

Cet animal est à coup sûr moins sensible que le cobaye vis-à-vis de certaines espèces microbiennes de la gangrène gazeuse; il l'est cependant beaucoup si on l'inocule avec le *bacillus œdematiens*, de même avec l'association microbienne employée par nous dans ces expériences. Au surplus cette objection ne doit pas nous arrêter, car, dans tous nos essais réalisant le type de la gangrène gazeuse expérimentale, nous nous sommes toujours adressés à des doses mortelles pour les témoins en un temps ne dépassant pas deux jours et demi.

Les animaux ont tous été inoculés de la façon suivante :

La peau de l'une des cuisses, la gauche généralement, est débarrassée de poils sur sa face externe, puis sectionnée aux ciseaux sur une longueur de 2 centimètres environ, les aponeuroses sont dilacérées et le plan musculaire mis à nu.

On pratique alors en plein muscle un tunnel de 4 à 5 centimètres de long au moyen d'une paire de ciseaux à pointes aiguës. Les ciseaux sont retirés en ayant soin d'en écarter les branches de façon non seulement à agrandir la plaie, mais encore à broyer les muscles sur tout le trajet de l'inoculation.

Une fois sur trois environ une hémorragie assez sérieuse se produisait, circonstance éminemment favorable pour le développement ultérieur de l'infection.

Aussitôt après et aussi profondément que possible on introduisait un morceau de drap de 2 centimètres carrés, aseptisé ou non avant la souillure et l'animal était reporté dans sa cage.

3° TECHNIQUE DE L'IMPRÉGNATION ANTISEPTIQUE ET DE LA SOUILLURE DES DRAPS INOCULÉS. — Du drap de capote d'uniforme a été divisé en deux lots et stérilisé à l'autoclave à 120° pendant une demi-heure.

Nos premières expériences avaient porté sur du drap non stérilisé, de façon à nous mettre à peu près dans les conditions de la pratique, mais la flore propre au drap entraînait alors en jeu et les phénomènes observés étaient peu nets.

De plus nous avons vu une grande utilité à agir sur des draps stérilisés au préalable, parce qu'on aurait pu nous objecter à juste raison que les substances antiseptiques stérilisaient plus ou moins une partie de nos draps alors que les draps-témoins ne subissaient pas la même opération. Il y aurait donc pu avoir, seulement, apparence de résultats favorables.

Une fois stérilisé, un premier lot subit un trempage d'un quart d'heure dans un des antiseptiques sus-mentionnés, puis est essoré rapidement et desséché à l'air libre et à la température ordinaire, ce qui demandait de deux à trois jours. La dessiccation à l'étuve et à 40° aurait été évidemment plus rapide, mais ce procédé peut avoir avec certaines des substances employées, en particulier avec l'acide hydrofluosilicique, de graves inconvénients, et, entraîner des modifications de l'étoffe qui la rendent inutilisable.

Après dessiccation certains de nos draps n'ont servi qu'un mois après l'imprégnation antiseptique.

Ces draps sont alors découpés en petits morceaux de 2 centimètres carrés, puis souillés deux ou trois jours avant l'inoculation avec les espèces microbiennes produisant la gangrène gazeuse.

Les draps-témoins ont été souillés en même temps que les draps stérilisés et sans autre préparation que la stérilisation à l'autoclave.

4° ESPÈCES MICROBIENNES AYANT SERVI A NOS EXPÉRIENCES. — Ces espèces microbiennes sont de trois sortes. Elles nous ont été obligeamment fournies par MM. Weinberg et Seguin dont les travaux en matière de gangrène gazeuse font autorité et ont toutes été isolées par eux des plaies de guerre.

Ces trois espèces sont :

Le *Bacillus perfringens* (collection Weinberg);

Le Vibrion septique n° 131 (collection Weinberg);

Le *Bacillus œdematiens* (Delombre) (collection Weinberg).

Chacune de ces espèces a été étudiée isolément d'abord tant du point de vue des phénomènes réactionnels qu'elles étaient susceptibles de provoquer chez les animaux, lorsqu'elles étaient inoculées sur des draps non antiseptisés, que du point de vue des différences apportées dans les signes de l'infection par l'emploi de drap imprégné au préalable de mélanges antiseptiques.

Ces essais présentaient pour nous un réel intérêt; nous ne leur accorderons cependant qu'un développement restreint, et nous nous contenterons de mentionner seulement les conclusions que l'on peut en tirer.

5° RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES. — Vis-à-vis du lapin, il est nécessaire d'inoculer sur drap une assez forte dose de culture de 2 ou 3 jours pour obtenir la mort de l'animal en un temps assez long, 8 à 10 jours. Cette dose est de 1 cent. cube pour le *B. perfringens*, de 1/2 cent. cube pour le V. septique n° 131. Elle est moindre pour le *B. œdematiens* (Delombre) qui, employé isolément, tue le lapin à la dose de 3/10 cent. cube (culture de 6 jours).

Dans toutes ces inoculations, la culture a été répandue sur un carré de drap de mêmes dimensions et aussi également que faire se pouvait.

D'ores et déjà, il est possible de noter une grande différence entre le pouvoir infectant de ces espèces microbiennes prises isolément et celui observé lorsqu'on les mélange ensemble dans les proportions que nous indiquerons quelques lignes plus loin.

Dans ce dernier cas une dose minime de 1/10 cent. cube est largement suffisante pour amener la mort en 20 ou 30 heures le plus souvent. Ce fait avait déjà été signalé par MM. Weinberg et Seguin, nos expériences le confirment.

Le *B. perfringens* est l'agent pathogène qui s'est montré le moins virulent pour le lapin, le *B. œdematiens* (Delombre) le plus virulent.

L'action des antiseptiques, dans le cas présent, huile de houille à 5 p. 100, huile de houille à 5 p. 100 + naphtol α à 1/100, s'est montrée assez nette en ce qui concerne le *B. perfringens* et le V. septique (n° 131).

Les animaux inoculés ainsi présentaient des symptômes très atténués et d'une durée de 1 à 3 jours seulement, la maladie se terminant par la guérison. Les animaux-témoins présentaient des phénomènes d'infection de 8 à 15 jours se terminant dans la moitié des cas par la mort avec lésions évidentes de gangrène gazeuse.

Vis-à-vis du *B. œdematiens* (Delombre) l'action de l'huile de houille à 5 p. 100 naphtolée ou non est moins sensible. Tous les témoins sont morts, 50 p. 100 des animaux inoculés avec les draps antiseptisés, puis souillés, ont guéri.

Il en a été de même vis-à-vis du mélange microbien : *B. perfringens*, V. septique (n° 131), *B. œdematiens* (Delombre).

Ce mélange a été fait dans les proportions suivantes :

<i>B. perfringens</i>	3	cent. cubes de culture de 6 jours.
V. septique (n° 131).	2	—
<i>B. œdematiens</i>	2	—

C'est ce mélange qui dans nos expériences définitives est désigné sous le nom de S. O. P. 223.

Un dixième de centimètre cube, répandu sur du drap non antiseptisé et desséché pendant 2 ou 3 jours suivant la température extérieure, suffit pour tuer le lapin en quelques heures.

Contre une association microbienne aussi virulente, l'huile de houille à 5 p. 100 naphtolée ou non n'a eu que peu d'action. Cependant les animaux présentant des retards de 24 et 48 heures sur les témoins, nous fûmes amenés à étudier les effets de l'augmentation du taux de l'huile de houille sans naphtol et à compléter cette étude par l'adjonction de nouvelles substances antiseptiques : Sublimé au 1/4.000, acide benzoïque 1/100 joints à l'huile de houille à 20 p. 100, acide hydrofluosilicique à 7,5 p. 100, fluosilicate de potassium employés seuls et séparément.

**RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES DÉFINITIVES
SUR LA GANGRÈNE GAZEUSE EXPÉRIMENTALE**

TABLEAU I (EXPÉRIENCE I). — 19 MARS 1918.

	NUMÉRO d'ordre	DURÉE de maladie	GUÉRISON	MORT
I. Animaux témoins inoculés avec drap non antiseptisé et souillé avec 1/10 de c.c. de S. O. P. 223.	46	36 heures.	»	36 h.
	49	32 —	»	32 h.
	50	30 —	»	30 h.
II. Animaux inoculés avec drap imprégné d'huile de houille à 20 0/0 en solution dans le tétrachlorure de car- bone, puis souillé avec 1/10 de c.c. de S. O. P. 223.	37	0	+	»
	38	6 jours.	+	»
	48	76 heures.	»	76 h.
III. Animaux inoculés avec drap imprégné d'huile de houille à 20 0/0 en solution dans le C Cl ⁴ + sublimé au 1/4.000 et souillé avec 1/10 de c.c. de S. O. P. 223.	51	48 heures.	»	48 h.
	52	0	+	»
	53	144 heures.	»	144 h.
IV. Animaux inoculés avec drap imprégné d'huile de houille à 20 0/0 + ac. benzoïque à 1/100 en solution dans té- trachlorure de carbone et souillé avec un 1/10 de c.c. de S. O. P. 223.	35	6 jours.	+	»
	36	24 heures.	+	»
	39	24 — (1)	»	72 h.
V. Animaux inoculés avec drap imprégné d'acide hydro- fluosilicique à 7,5 0/0 et souillé avec 1/10 de c.c. de S. O. P. 223.	40	0	+	»
	41	0	+	»
VI. Animaux inoculés avec drap imprégné de fluosilicate de potassium et souillé avec 1/10 de c.c. du mélange S. O. P. 223.	42	48 heures.	»	48 h.
	43	36 —	»	36 h.
	45	36 —	»	36 h.

(1) Les chiffres relatifs à l'animal 39 ne sont point contradictoires : l'animal a été pris au bout de 24 heures et est mort 48 heures après.

Le tableau I (expérience I) ci-contre, contient les résultats observés dans nos expériences définitives vis-à-vis du mélange S. O. P. 223 et portant sur ces cinq antiseptiques.

REMARQUES SUR CETTE EXPÉRIENCE.

Il est facile de se rendre compte que les animaux-témoins sont tous morts dans un temps variable de 30 à 36 heures et que, par contre, si l'on excepte l'essai tenté avec le fluosilicate de potassium qui n'a donné aucun résultat et doit donc être rejeté en tant que substance antiseptique, tous les autres animaux ont ou bien guéri, ou bien sont morts avec des retards fort appréciables.

Des quatre antiseptiques reconnus efficaces, l'acide hydrofluosilicique s'est montré de beaucoup le plus actif. Non seulement aucun des animaux n'est mort, mais aucun n'a même présenté un signe d'infection quelconque.

Une deuxième expérience s'imposait donc. Voir le tableau II (expérience II) ci-dessous. Elle devait confirmer les premiers résultats obtenus.

REMARQUES SUR CETTE DEUXIÈME EXPÉRIENCE.

Cette dernière expérience est véritablement concluante. Tous les témoins sont morts en 60 heures au maximum. Aucun des animaux inoculés avec du drap antiseptisé n'a succombé pendant la durée de l'expérience. Un seul, le n° 60, est mort le 11 mai, c'est-à-dire 37 jours après l'inoculation. L'autopsie a révélé des lésions de coccidiose très prononcées qui donnent raison de la mort de l'animal. Du côté de la cuisse inoculée, il a été impossible de découvrir à l'autopsie la moindre trace de lésion de gangrène gazeuse. Le drap était enkysté dans les muscles, et un frottis ne révéla que quelques très rares microbes prenant le Gram.

Deux animaux, peut-être trois, ont bien présenté quelques phénomènes fugitifs dus surtout, selon nous, aux grands délabrements pratiqués au moment de l'inoculation.

Il est à noter que les draps imprégnés avec l'acide hydrofluosilicique, ou bien avec le mélange acide hydrofluosilicique et

sublimé l'avaient été 18 jours auparavant. Cette expérience nous a montré également qu'il était préférable de ne pas pratiquer directement nos imprégnations avec la solution acide hydrofluosilicique-bichlorure de mercure. Si, en effet, le mélange des

TABLEAU II (EXPÉRIENCE II). — 5 AVRIL 1918.

	NUMÉRO d'ordre	DURÉE de maladie	GUÉRISON	MORT
I. Animaux témoins inoculés avec drap souillé par 1/10 de c. c. du mélange S. O. P. 223.	63	60 heures.	»	60 h.
	64	44 —	»	44 h.
	65	36 —	»	36 h.
II. Animaux inoculés avec drap imprégné d'acide hydro- fluosilicique à 7,5 0/0 et souillé avec 1/10 de c. c. du mélange S. O. P. 223.	54	0	+	
	55	0	+	
	56	0	+	
III. Animaux inoculés avec drap imprégné d'acide hydro- fluosilicique à 7,5 0/0 + su- blimé au 1/4.000 et souillé avec 1/10 de c. c. de S. O. P. 223.	57	Signes? 24 h.	+	
	58	0	+	
	59	Signes? 24 h.	+	
IV. Animaux inoculés avec drap ayant subi deux imprégna- tions, la première avec ac. hydrofluosilicique, la deuxième avec huile de houille à 5 0/0 + sublimé au 1/4.000 et souillé avec 1/10 de c. c. de S. O. P. 223.	60	0	+	
	61	0	+	
	62	Signes? 24 h.	+	

deux produits se fait parfaitement bien et si la solution obtenue est limpide, au moment du trempage de l'étoffe, il y a, pour une cause indéterminée par nous, décomposition partielle du mélange et précipitation d'une substance blanchâtre qui nous a paru être de la silice gélatineuse.

Si l'on pratique au contraire la double imprégnation successive, acide fluosilicique d'abord, puis après séchage, huile de houille à 5 p. 100 et sublimé, cet inconvénient disparaît.

Il peut sembler à première vue, l'action antiseptique de

l'acide hydrofluosilicique employé seul, se montrant nettement supérieure à celle de l'huile de houille à 20 p. 100 additionnée ou non de bichlorure de Hg, qu'il soit inutile de s'adresser à ces deux derniers produits et de faire une seconde imprégnation.

Pourquoi donc avoir conservé ces produits dans nos expériences ultérieures ?

La double imprégnation, nous l'avons constaté à plusieurs reprises, rend les étoffes ainsi traitées moins sensibles aux lavages, c'est seulement après le deuxième que le pouvoir microbicide devient insuffisant.

Un second argument plaide en faveur de cette deuxième imprégnation par l'huile de houille. Nos recherches étant effectuées en vue de la Défense nationale, il y avait intérêt de dépister dans la mesure du possible les analyses que l'ennemi n'aurait pas manqué de faire en apprenant l'emploi par nos troupes de vêtements antiseptisés.

Par la présence de l'huile de houille, produit facilement décelable, on pouvait espérer aiguiller les investigations sur une toute autre voie, permettant ainsi au corps vraiment actif, l'acide hydrofluosilicique, de passer inaperçu.

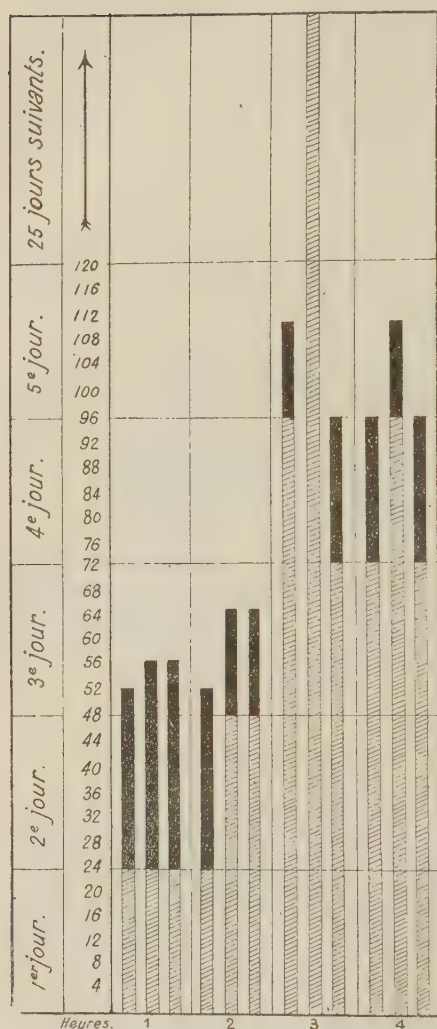
EXPÉRIENCES SUR LE TÉTANOS EXPÉRIMENTAL

Le microbe dont la culture nous fut confiée par M. le D^r Loiseau de l'Institut Pasteur présente cette particularité, que la toxine qu'il secrète est d'une activité vraiment surprenante. Elle tue la souris à la dose ultra-minime de 1/20.000^e de cent. cube.

Il y avait de ce fait, pour la conduite de nos expériences sur cette maladie, une cause d'erreur qu'il nous fallait tout d'abord éliminer.

Les antiseptiques n'ont aucune action reconnue jusqu'à maintenant du moins contre les toxines. En présence d'une pareille activité, il se pouvait que les phénomènes toxiques dominassent les phénomènes microbiens et puissent ainsi nous amener à des conclusions erronées.

Nous avons résolu cette difficulté, en lavant pendant plus d'une semaine les microbes dont nous avions l'intention de



Graphique n° 1 montrant les résultats de l'expérience I sur le tétanos expérimental. (En hachures : périodes d'incubation; en noir : périodes de maladie avec mort consécutive.)

1. Animaux témoins. Drap souillé avec une goutte du mélange T.
2. Drap avec huile de houille à 20 0/0 en solution dans le CCl⁴. Même souillure.
3. Drap avec huile de houille à 20 0/0 + sublimé au 1/4.000 en solution dans le CCl⁴. Même souillure.
4. Drap avec huile de houille à 20 0/0 + ac. benzoïque à 1 0/0 en solution dans CCl⁴. Même souillure.

nous servir, puis filtrant la dernière eau de lavage sur bougie Chamberland n° L3, nous avons injecté un cent. cube du filtrat dans le cul-de-sac dorsal d'une souris et avons ainsi pu constater que cette eau de lavage était inoffensive.

Nous avons donc pu employer nos bacilles tétaniques sans craindre d'attribuer le tétanos observé à des phénomènes toxiques.

Cinq gouttes d'une émulsion de bacilles lavés sont ajoutées à une certaine quantité d'eau stérile pour former le volume final de 1 cent. cube et constituant ce que dans nos tableaux nous désignons du nom de mélange T. Une goutte de ce mélange est répandue sur un petit carré de drap de 2 millimètres de côté.

Cette goutte est desséchée sur le drap à l'air libre et à la température du laboratoire.

Cette dose est largement suffisante pour provoquer, au bout de 20 à 24 heures, l'appar-

rition chez la souris blanche d'un tétanos expérimental se terminant en 50 heures, et même moins, par la mort.

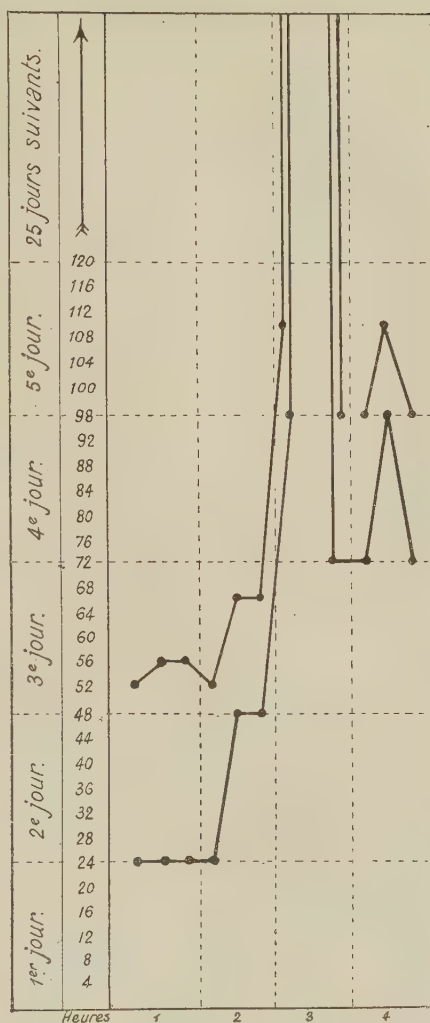
L'animal réactif de choix pour le tétanos est la souris blanche, c'est donc sur cet animal que les expériences ont été exécutées.

Nous les résumerons dans les tableaux III et IV, ci-après.

D'après le tableau III (expérience I), les résultats semblent moins bons que pour la gangrène gazeuse. On retarde la mort, on ne l'empêche point, dans la grande majorité des cas tout au moins.

Le mélange antiseptique, qui dans cette expérience paraît être le plus actif, est l'huile de houille à 20 p. 100 additionnée de bichlorure de mercure au 1/4.000^e.

Ce mélange a donné des retards de 40 et 54 heures sur la mort des témoins, de 48 et 72 h. sur la date d'apparition des premiers symptômes, un des animaux a même échappé à l'infection.



Graphique n° 2 se rapportant à l'expérience I sur le tétanos expérimental et montrant l'action des divers antiseptiques employés sur la date d'apparition des symptômes et l'évolution de la maladie. Courbe inférieure : début de la maladie; courbe supérieure : date de la mort.

1. Animaux témoins. Drap souillé avec une goutte de mélange T.
2. Drap avec huile de houille à 20 0/0 en solution dans C Cl'. Même souillure.
3. Drap avec huile de houille à 20 0/0 + sublimé au 1/4.000. Même souillure.
4. Drap avec huile de houille à 20 0/0 + acide benzoïque à 1 0/0. Même souillure.

TABLEAU III (EXPÉRIENCE I). — Sur le tétanos expérimental (16 MARS 1918).

	NOMBRE d'ordres	APRÈS								RETARDS SUR		
		24 h.	48 h.	52 h.	56 h.	65 h.	72 h.	96 h.	110 h.	150 h.	apparition des symptômes	date de la mort
I. Drap témoin souillé avec 1 goutte mélange T.	1	Pris.	Pris.	Mort.	»	»	»	»	»	»	0	0
	2	Pris.	Pris.	Pris.	Mort.	Mort.	»	»	»	»	28 h.	9 h.
	3	Pris.	Pris.	Pris.	Mort.	Mort.	»	»	»	»	28 h.	9 h.
II. Drap imprégné d'huile de houille à 20 0/0 en solution dans C Cl ⁴ et souillé avec 4 goutte de mélange T.	1	Pris.	Pris.	Mort.	»	»	»	»	»	»	0	0
	2	Rien.	Rien.	Pris.	Pris.	Mort.	»	»	»	»	28 h.	9 h.
	3	Rien.	Rien.	Pris.	Pris.	Mort.	»	»	»	»	28 h.	9 h.
III. Drap imprégné d'huile de houille à 20 0/0 + sublimé au 1/4.000 en solution dans C Cl ⁴ . Même souillure.	1	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien	Pris.	Mort.	»	72 h.	54 h.
	2											
	3	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Pris.	Mort.	»	»	48 h.	40 h.
IV. Drap imprégné d'huile de houille à 20 0/0 + ac. benzoïque au 1/100 en solution dans C Cl ⁴ . Même souillure.	1	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Mort.	»	»	72 h.	40 h.
	2	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Pris.	Pris.	Mort.	»	96 h.	54 h.
	3	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Pris.	Mort.	»	»	72 h.	40 h.

Les différences d'action des trois groupes d'antiseptiques apparaissent d'ailleurs encore plus nettement si l'on se reporte aux graphiques n^{os} 1 et 2.

Si l'on compare maintenant la durée de l'évolution du tétanos expérimental chez les animaux témoins et chez ceux inoculés avec les draps antiseptisés puis souillés, on s'aperçoit que chez ces derniers la maladie (depuis l'apparition des premiers symptômes jusqu'à la mort) affecte une allure notablement plus rapide par rapport auxdits témoins.

Tandis que pour les animaux témoins, on relève les chiffres de 28 heures, 32 heures, 32 heures de maladie, pour le deuxième groupe (huile de houille à 20 p. 100) on note ceux de 28 heures, 17 heures et 17 heures.

Pour le troisième groupe (huile de houille à 20 p. 100 + sublimé), 14 heures et 24 heures. (On ne compte pas bien entendu l'animal qui est resté indemne.)

Pour le quatrième groupe (huile de houille 20 p. 100 + ac. benzoïque), 24 heures, 14 heures, 24 heures (graphique n^o 3).

Les moyennes pour chaque groupe sont donc de 30 h. 36' pour les témoins, de 20 h. 36' pour le deuxième groupe; de 18 h. pour le troisième; de 20 h. 36' pour le quatrième.

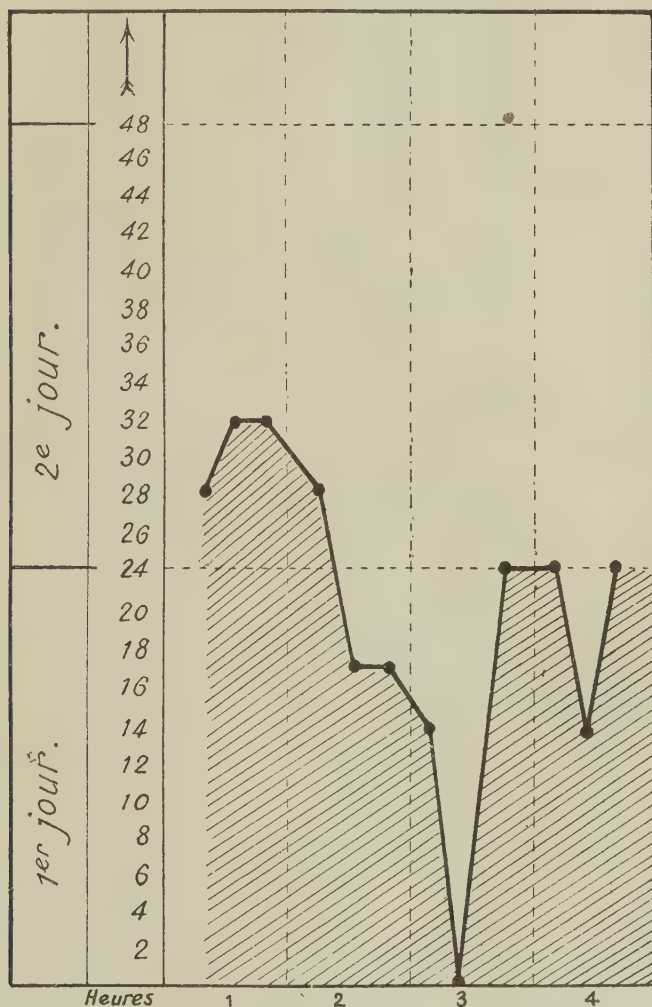
De nouvelles expériences seraient cependant nécessaires pour montrer si l'on doit considérer cette notion comme exacte ou bien s'il n'y a là qu'une simple coïncidence. En effet si l'on se reporte aux résultats de l'expérience suivante (n^o II, voir le tableau IV, ci-contre), on voit que la durée de la maladie chez les témoins, seuls animaux qui ont été atteints et chez lesquels l'inoculation avait été pratiquée avec la même culture, plus âgée de quelques jours il est vrai, mais suivant le même mode opératoire que dans l'expérience n^o I, est respectivement de 27 heures, 12 heures et 17 heures, soit une moyenne de 18 h. 36'. Ces derniers chiffres se rapprochent donc beaucoup de ceux des divers groupes d'animaux inoculés avec les draps antiseptisés et souillés de l'expérience n^o I.

C'est pourquoi nous ne tirerons à cet égard aucune conclusion ferme.

Passons de suite à l'exposé de notre deuxième expérience sur le tétanos expérimental. Elle porte sur l'action de l'acide hydrofluosilicique seul ou additionné de sublimé ou employé

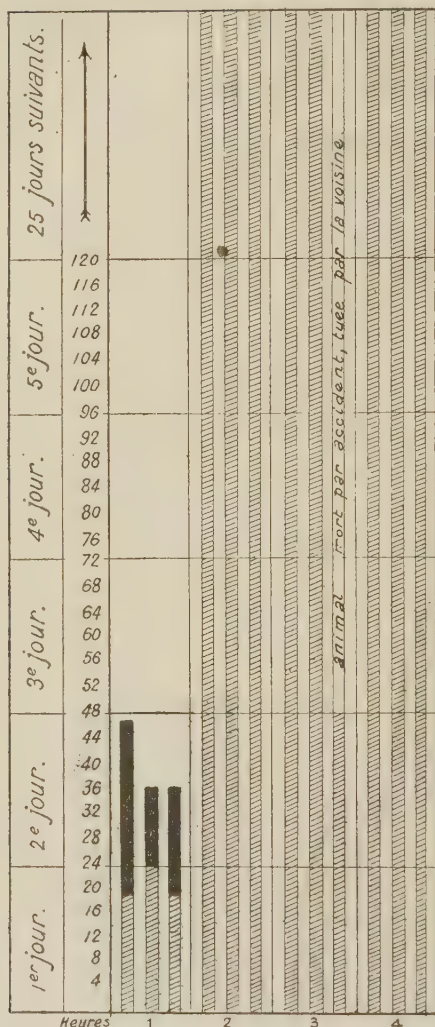
concurrentement avec une deuxième imprégnation au moyen de l'huile de houille à 5 p. 100 + sublimé.

Les résultats de cette expérience (voir le tableau IV, ci-



Graphique n° 3 montrant l'évolution plus rapide du tétanos une fois déclaré chez les animaux inoculés avec les draps antiseptisés et souillés que chez les témoins.

1. Animaux témoins. Drap souillé avec 1 goutte de mélange T.
2. Drap avec huile de houille à 20 0/0. Même souillure.
3. Drap avec huile de houille à 20 0/0 + sublimé au 1/4.000. Même souillure.
4. Drap avec huile de houille à 20 0/0 + acide benzoïque 1 0/0. Même souillure.



Graphique n° 4 se rapportant à l'expérience II sur le tétanos. En hachures : périodes de non-maladie; en noir : périodes de maladie, avec mort consécutive.)

1. Animaux témoins. Drap souillé avec une goutte du mélange T.
2. Drap avec acide hydrofluosilicique à 7,5 0/0. Même souillure.
3. Drap avec acide hydrofluosilicique à 7,5 0/0 + sublimé au 1/4.000. Même souillure.
4. Drap ayant subi deux imprégnations : 1° acide hydrofluosilicique à 7,5 0/0; 2° huile de houille à 5 0/0 + sublimé au 1/4.000. Même souillure.

contre) sont représentés d'une façon encore plus saisissante par le graphique n° 4.

Signalons que les animaux de ces deux expériences sont restés en observation pendant un mois. Aucun n'a succombé. Au bout de quatre mois ils étaient encore vivants (observation du 10 août 1918). Quelques-uns sont morts entre le sixième et le septième mois, aucun n'a présenté le moindre symptôme de tétanos. L'autopsie a montré que leur mort était due à une infection banale.

Le drap inoculé a toujours été retrouvé enkysté. L'examen microscopique n'a pu permettre de déceler aucune forme ressemblant au bacille tétanique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

De tous les faits observés dans nos expériences se dégagent les conclusions suivantes :

Il est possible par l'emploi des substances antiseptiques étudiées, et ce,

même un mois après leur incorporation au drap, de retarder ou même d'empêcher l'éclosion de la gangrène gazeuse expérimentale.

Il en est de même pour le tétanos expérimental.

Les produits antiseptiques qui nous paraissent les plus actifs sont :

1° L'acide hydrofluosilicique à 7,5 p. 100 ;

2° Le mélange acide fluosilicique à 7,5 p. 100 et sublimé au 1/4.000°.

3° La double imprégnation des étoffes faite successivement par l'acide fluosilicique à 7,5 p. 100 et l'huile de houille à 5 p. 100 + sublimé au 1/4.000°.

Aucune de ces substances ne s'est montrée nocive pour la peau humaine à la dose employée.

Des gilets de flanelle ont été portés par nous pendant dix jours consécutifs sans que nous en ayons éprouvé le moindre inconvénient, l'un de nous est cependant très disposé aux poussées eczémateuses.

Pour les raisons sus-mentionnées, le mélange acide fluosilicique sublimé nous semble à rejeter ; par contre, en employant la double imprégnation des étoffes, d'abord par l'acide fluosilicique à 7 gr. 5 p. 100, ensuite le mélange huile de houille-sublimé, il est parfaitement possible de réduire d'une manière considérable le taux de l'huile de houille, celle-ci pouvant être utilisée à la dose de 5 p. 100, le sublimé restant toujours au titre de 1/4.000°.

*
* *

Nos expériences nous amènent à envisager la nécessité d'entreprendre des essais en grand sur l'homme.

De ce que lesdites expériences sont probantes sur les animaux dont nous nous sommes servis et dans les conditions où nous sommes placés, nous nous garderons de conclure dès maintenant que les mêmes résultats seront observés chez l'homme.

S'il en était ainsi cependant, loin de rendre inutile l'usage des méthodes actuellement préconisées contre la gangrène gazeuse et le tétanos, nous voulons parler des sérums antigangreneux et antitétanique, la méthode préventive basée sur

l'antiseptisation des vêtements du combattant, retardant les débuts de l'infection dans de très fortes proportions, en permettrait au contraire un emploi plus efficace.

NOTA. — Ces expériences ont été exécutées du 1^{er} novembre 1917 au 1^{er} juin 1918, mais vu leur intérêt pour la Défense nationale, elles sont restées secrètes et n'ont été communiquées à aucune Société savante.

REPRODUCTION DES INFECTIONS PARATYPHIQUE ET TYPHIQUE.

SENSIBILISATION AU MOYEN DE LA BILE (1)

par A. BESREDKA.

Des progrès en matière de vaccination typhique ou paratyphique ne sauraient être réalisés tant qu'on ne dispose pas de réactif approprié de l'infection elle-même. En d'autres termes, avant de se livrer à l'étude des vaccins, il importe de trouver un animal qui se prête à la reproduction de la maladie elle-même, sinon avec tous ses caractères, au moins avec ceux qui rappellent le plus la fièvre typhoïde ou paratyphoïde de l'homme.

La péritonite du cobaye, à laquelle on a le plus souvent recours, ne répond qu'imparfaitement au but. Les expériences de Metchnikoff sur la fièvre typhoïde des anthropomorphes ont montré combien sont différents les caractères de cette maladie chez le cobaye et chez le chimpanzé. Il en a conclu que, pour apprécier la valeur d'un vaccin, la véritable pierre de touche est l'anthropomorphe et non pas le cobaye.

Si démonstratives que soient ces expériences auxquelles nous eûmes l'honneur d'être associé, on doit convenir que l'emploi d'un animal de luxe qu'est le chimpanzé exclut l'expérimentation sur une grande échelle. Aussi la recherche d'un animal plus accessible s'imposait-elle. Notre maître s'en est rendu compte lui-même, et lorsque, la guerre déclarée, il entreprit, pour apporter sa contribution à l'œuvre commune, l'étude de la paratyphoïde B, il s'adressa à la souris.

Son intention fut d'abord de reproduire la maladie par la voie buccale, puis de rechercher le meilleur mode de vaccination. Ses recherches d'autrefois, aujourd'hui classiques, sur le choléra des petits lapins, l'aiguillèrent vers les souris à la

(1) Voir les notes préliminaires dans les *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CLXVII, p. 242; 29 juillet 1918 et t. CLXVIII, p. 1338; 23 juin 1919.

mamelle. En effet, dès les premières expériences plusieurs souris nouveau-nées, nourries avec des cultures paratyphiques B, contractèrent la maladie mortelle ; d'autres résistèrent, on ne sait pas pourquoi.

Même sur son lit de douleur, immobilisé déjà par la maladie, Metchnikoff ne cessa de suivre avec intérêt ces recherches dont il confia l'exécution à M. Rubinstein (1), le seul travailleur de son entourage épargné par la mobilisation.

*
* *

Les animaux de laboratoire (lapins, cobayes, souris) sont sensibles à l'inoculation du virus paratyphique B. La voie d'inoculation sous-cutanée est moins sévère que la voie intrapéritonéale ou intraveineuse, mais toutes le sont suffisamment pour mettre la vie de l'animal en sérieux péril, même avec une faible dose de virus.

Fait curieux, la seule voie qui soit pratiquement invulnérable est la voie buccale. L'appareil digestif a beau être le plus affecté au cours de l'infection paratyphique, les expériences nous ont montré que des doses massives de bacilles vivants peuvent être ingérées par le lapin ou par la souris, sans provoquer aucun trouble, du moins en apparence.

Cette immunité vis-à-vis du virus ingéré ne pouvait *a priori* tenir qu'à l'arrêt des bacilles dans l'estomac, ou dans l'intestin, ou dans les deux réunis.

Les expériences d'orientation, entreprises dans cet ordre d'idées sur des lapins, nous ont montré que les bacilles paratyphiques B, introduits par la bouche, franchissent le pylore, sinon tous, au moins en grand nombre, et que c'est au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle que les bacilles rencontrent un obstacle à leur dissémination dans l'organisme.

On pouvait dès lors se demander, s'il n'était pas possible d'affaiblir cette barrière intestinale, au moins, à un certain degré ; s'il n'était pas possible, en modifiant la muqueuse par un artifice inoffensif, en y créant au besoin une brèche très légère, de ménager aux microbes une issue à travers la paroi intestinale.

(1) *Comptes rendus de la Société de Biologie*, t. LXXX. 6 janvier 1917, p. 32.

Nous avons pensé à utiliser la bile.

De nombreuses expériences nous ont montré que la bile de bœuf, donnée au lapin par la bouche, le sensibilise en effet vis-à-vis du virus paratyphique B, c'est-à-dire amoindrit la résistance naturelle de l'animal vis-à-vis de l'infection.

La bile a non seulement pour effet d'enrichir le contenu intestinal en virus, mais encore d'intensifier la sécrétion biliaire propre du lapin. Cette sécrétion renforcée déclenche une desquamation intense de la muqueuse intestinale et, partant, favorise la résorption du virus et sa généralisation dans l'organisme.

Le pouvoir sensibilisant de la bile de bœuf ingéré peut être mis en évidence de deux façons, soit que l'on introduise chez le lapin du virus paratyphique par la bouche, soit que l'on inocule le virus par la voie intraveineuse.

Nous allons examiner les deux cas.

*
*
*

Les lapins doivent être considérés comme pratiquement réfractaires à l'infection par la voie buccale : plus d'une fois nous leur avons fait avaler des bacilles vivants recueillis sur une demi-boîte de Roux sur gélose et même sur une boîte entière, sans provoquer d'autre phénomène qu'une diminution passagère de poids.

Il n'en est pas de même lorsque l'administration de virus paratyphique est précédée d'ingestion de bile. En ce cas, avec beaucoup moins de culture, on peut provoquer une infection mortelle en quelques jours. La maladie ne s'établit pas d'emblée. Après une période d'incubation de un à quatre jours, pendant laquelle rien en apparence ne trahit l'état d'infection, les selles deviennent diarrhéiques. L'animal se tient immobile des heures entières dans le coin de sa cage ; c'est à peine s'il touche aux aliments. Il dépérit à vue d'œil ; en quelques jours il maigrit de 300 à 400 grammes. De temps en temps il pousse un cri plaintif. Sa température baisse. La diarrhée devient profuse ; le train postérieur baigne littéralement dans les matières.

La maladie dure deux à trois jours et se termine en hypo-

thermie profonde. Quelquefois la cachexie est lente ; avant de mourir, l'animal traîne une existence misérable pendant douze à quinze jours.

A l'autopsie, ce qui frappe, c'est l'aspect de l'intestin grêle. Fortement congestionné, quasi transparent, l'intestin est rempli, dans la grande partie de son parcours, d'un liquide vert visqueux, charriant des paquets d'épithélium desquamé. Les parois amincies par la desquamation sont ressortir de place en place des plaques de Peyer turgescents. Ce qui n'attire pas moins l'attention, ce sont les dimensions démesurées de la vésicule biliaire ; celle-ci contient jusqu'à 8 cent. cubes de bile verte transparente tirant au bleu, ou bien de bile complètement décolorée et trouble.

L'ensemencement de la bile et, le plus souvent, celui du sang dans le cas où la maladie n'a pas duré longtemps, donne une culture pure de bacille paratyphique B. Le contenu de l'estomac est stérile ; par contre, celui de l'intestin grêle, puisé à différentes hauteurs, donne des colonies paratyphiques en abondance ; il n'est pas rare de trouver ce bacille à l'état de culture pure. Dans le gros intestin, on rencontre également des bacilles paratyphiques, mais ils sont en nombre d'autant plus faible que l'on est plus près de la portion terminale.

En voici un exemple.

EXPÉRIENCE I. — Lapin, 1.195 grammes.

23 novembre, 9 h. du matin, reçoit *per os* 5 cent. cubes de bile de bœuf ; 4 h. du soir, température 38°5.

24 novembre, 9 h. matin, température 38°7 ; reçoit *per os* 3 cultures sur tubes de gélose de bacille paratyphique B émulsionnée dans du lait ; 3 h., 5 cent. cubes de bile *per os* ; 4 h. soir, température 39°.

25 novembre, diarrhée dès le matin ; 9 h. matin, température 38°2 ; 4 h. soir, température 37°8.

26 novembre, diarrhée abondante ; on est obligé de changer la litière plusieurs fois dans la journée ; 9 h. matin, 37°2 ; 4 h. soir, 36°4.

27 novembre, trouvé mort. Autopsie : l'intestin grêle est congestionné dans presque toute sa longueur ; par transparence on voit à travers les parois un liquide légèrement trouble ; la vésicule biliaire est fortement distendue ; la rate est petite ; rien d'anormal ailleurs.

L'ensemencement du sang du cœur et de la bile sur gélose lactosée tournesolée donne des colonies de paratyphique. L'estomac et la vessie ne donnent pas de culture. Le contenu de l'intestin grêle, prélevé en différents points, montre des bacilles paratyphiques, tantôt en culture pure, tantôt associés à des colonies de *B. coli*. Le cæcum et l'appendice donnent sur plaques à peu près autant de colonies bleues que rouges. Dans le côlon et

la partie terminale de l'intestin, les paratyphiques sont rares; on y voit surtout de nombreux *B. coli*.

Remarquons que la bile de bœuf ingérée seule, sans microbes, est tout à fait inoffensive. Ce n'est donc pas parce qu'elle est toxique, ou parce qu'elle influe sur l'état général de l'animal, que la bile a le don de le sensibiliser. L'action de la bile est limitée à l'appareil intestinal; on peut même dire que son action ne s'étend pas au delà de la muqueuse, qu'elle est, en d'autres termes, purement locale.

La culture de paratyphique B, avec laquelle nous avons fait la plupart de nos expériences, fut isolée par nous pendant l'épidémie de Verdun en 1915, chez un malade atteint d'une paratyphoïde extrêmement grave. Dans le courant de 1917 nous nous sommes aperçu que, de très virulente qu'elle était, la culture est devenue peu pathogène par la voie buccale.

Ce contretemps, qui fit subir un arrêt momentané à nos recherches, eut l'avantage de nous orienter vers l'inoculation par la voie veineuse et de nous faire comparer les deux modes d'infections, buccale et veineuse, pour le bacille paratyphique B, le bacille typhique et le bacille dysentérique. Le mécanisme de l'infection dysentérique ayant fait l'objet d'un mémoire précédent (1), nous allons passer à l'étude des virus paratyphique B et typhique.

*
* *

Quand on introduit des bacilles paratyphiques B dans le torrent circulatoire, par la veine auriculaire du lapin, par exemple, on s'attend à créer une infection généralisée, plus ou moins grave selon la dose de virus injecté. Dans le cas où la dose est mortelle, on ne manque pas, en effet, de trouver une hémoculture positive. La conclusion semble donc s'imposer : le virus paratyphique tue parce qu'il envahit le système vasculaire. Or, si cette conclusion est vraie pour le cas où, l'infection étant massive, la mort survient dans les vingt-quatre heures, elle est loin de la vérité chez l'animal ne succombant qu'au bout de plusieurs jours de maladie. Dans ce dernier cas, on trouve, il est vrai, aussi des bacilles paratyphiques dans le sang

(1) Ces *Annales*, mai 1919, p. 301.

du cœur; mais on aurait tort d'en conclure à la mort par septicémie pure. Si l'on se donne la peine d'examiner l'animal complètement, on est tout surpris de trouver des bacilles paratyphiques là où l'on s'attend le moins à en rencontrer. Les ensemencements montrent, en effet, qu'à côté de rares colonies fournies par le sang, une quantité innombrable de bacilles fourmillent dans la vésicule biliaire, dans le duodénum, dans le jéjunum, et bien souvent, dans le contenu de la presque totalité de l'intestin grêle. Plus la mort est lente à venir, plus nombreux sont les bacilles dans le contenu intestinal. Pour peu que la maladie se prolonge pendant quelques (trois ou quatre) jours, on est à peu près certain de trouver, lors de l'ensemencement de la bile et du liquide intestinal, une culture pure et abondante de bacille paratyphique.

Si, de plus, l'on prend en considération la présence des altérations macroscopiques de la vésicule biliaire et des parois de l'intestin, altérations d'autant plus frappantes que les autres viscères offrent un aspect normal, on ne saurait plus s'en tenir au diagnostic de septicémie. Cette dernière entre, certes, pour une part dans l'ensemble du processus qui entraîne la mort; mais le plus gros du drame paratyphique B se joue certainement non pas dans le sang, mais dans l'appareil biliaire et intestinal.

Bref, les lésions consécutives à l'introduction du virus paratyphique dans le sang sont calquées sur celles que nous avons observées à la suite de l'introduction du virus par la bouche. Le mécanisme de l'infection, tant au point de vue anatomique que bactériologique, est sensiblement le même dans les deux cas. On peut donc, sans courir aucun risque, substituer dans les expériences à venir l'inoculation intraveineuse, facile à réaliser, à l'inoculation buccale qui comporte une technique moins précise.

*
* *

Ce que nous venons de conclure au sujet du bacille paratyphique B s'applique en grande partie au bacille typhique. Nous disons « en grande partie », car en étudiant comparativement les deux maladies chez le lapin, nous avons eu l'impression que la septicémie est quelquefois plus prononcée

dans l'infection typhique que dans l'infection paratyphique. Cette différence, si toutefois elle existe, est insignifiante.

On sait que vis-à-vis du virus typhique introduit *per os* le lapin se montre totalement réfractaire. Il partage cette qualité avec tous les animaux de laboratoire. Rappelons que les divers procédés tentés par Metchnikoff et nous-même (1) pour vaincre cette immunité chez les lapins, les cobayes et les singes inférieurs avaient échoué; seuls les chimpanzés se laissèrent infecter par la bouche.

Déjà orienté par les résultats obtenus chez le lapin avec le bacille de Shiga (2) et le bacille paratyphique B, nous eûmes naturellement l'idée de voir s'il ne se passe pas quelque chose d'analogue dans l'appareil digestif, lors de l'inoculation du virus typhique dans les veines.

L'expérience a justifié notre attente. Lorsqu'on inocule des bacilles d'Eberth dans la veine auriculaire du lapin, ceux-ci viennent, au bout de très peu de temps, se localiser le long de l'intestin grêle et y créent des lésions caractéristiques. Chaque fois que la mort, au lieu de survenir rapidement, tarde pendant quelques jours, on trouve sur tout le trajet, qui va de la vésicule biliaire au cæcum, des bacilles typhiques, tantôt associés au *B. coli*, tantôt, et le plus souvent, à l'état de culture pure.

Au début de ces recherches une difficulté se présenta à nous : ce fut de trouver une dose de virus qui tuât le lapin en injection intraveineuse d'une manière à la fois lente (trois à six jours) et constante.

Cette condition a pu être réalisée au moyen de l'injection d'une émulsion concentrée de virus sous un petit volume.

EXPÉRIENCE II. — 29 avril, lapin 2.000 grammes, reçoit dans les veines 1/2 cent. cube d'émulsion de bacilles typhiques vivants (une boîte de Roux sur gélose de vingt-quatre heures est diluée dans 20 cent. cubes d'eau physiologique).

30 avril, 1.750 grammes. 2 mai, 1.580 grammes. 3 mai, 1.500 grammes. 5 mai, 1.300 grammes. 6 mai, 1.200 grammes.

Depuis le 5 mai, le train postérieur est souillé de matières diarrhéiques; dans l'après-midi du 6 mai, le lapin est mourant; on l'achève. Autopsie : les parois de l'intestin grêle sont fortement congestionnées. De place en place on aperçoit des plaques de Peyer turgescents. La vésicule biliaire est

(1) Ces *Annales*, mars 1911, p. 193.

(2) *Loc. cit.*

distendue; la bile est décolorée et renferme des concrétions blanchâtres. Le duodénum et le reste de l'intestin grêle, sur plus de moitié de son étendue, renferme un liquide vert, transparent, visqueux; ce liquide s'épaissit à mesure que l'on s'approche du cæcum. La partie terminale du gros intestin ne contient pas de matières; elle est distendue par des gaz. Le foie est friable. Rien d'anormal dans les autres organes.

A l'ensemencement: le sang est stérile; la bile donne une culture pure de bacilles typhiques; le contenu intestinal,ensemencé en cinq points différents, donne trois fois une culture pure de bacilles typhiques; en deux points, plus proches du gros intestin, des colonies typhiques sont mélangées avec des colonies de *B. coli*; l'urine renferme des *B. coli* et des bacilles typhiques.

Donc, les bacilles typhiques, introduits dans la circulation générale, ne séjournent pas longtemps dans le sang. Ils passent dans les reins et surtout dans l'intestin où ils étouffent les autres microbes, hôtes habituels de l'intestin. Sur un long parcours de l'intestin grêle, notamment dans la portion supérieure, les bacilles typhiques sont à l'état de culture pure. Les seules lésions visibles, à l'examen macroscopique, sont celles de l'intestin grêle: ses parois sont fortement congestionnées et son contenu est de consistance liquide caractéristique.

Entre ces phénomènes que nous constatons chez les lapins inoculés dans les veines et ceux observés autrefois chez les chimpanzés infectés *per os*, il y a plus qu'une analogie, il y a similitude. Nous pouvons donc conclure que, pour ce qui concerne le virus typhique, le mécanisme de l'infection par la voie veineuse ne diffère pas sensiblement de celui par la voie buccale.

Donc, qu'il s'agisse du bacille d'Eberth, du bacille paratyphique B ou du bacille de Shiga, introduits dans le sang, ils s'éliminent en grande partie, sinon intégralement, par la voie digestive. Que l'animal ait été infecté par la voie buccale ou par la voie sanguine, le mécanisme du processus pathologique est le même: en dernier lieu, les bacilles échouent dans l'intestin; par le nombre d'individus qui y parviennent se mesure la gravité de l'infection.

*
* *

Nous avons vu au début de l'article qu'en sensibilisant le lapin au moyen de la bile, c'est-à-dire, en lui faisant prendre par la bouche de la bile, avant de lui faire avaler le virus para-

typhique B, on peut lui faire contracter une infection mortelle.

Cette action sensibilisante de la bile apparaît avec non moins de netteté, dans le cas où le virus, au lieu d'être introduit par la bouche, est inoculé directement dans le sang.

EXPÉRIENCE III. — 8 novembre et 9 novembre, lapin 2.010 grammes, reçoit par la bouche 8 cent. cubes de bile. 9 novembre, laissé à jeun jusqu'au lendemain.

10 novembre, inoculation dans les veines de 1/20 de culture sur tube de gélose de bacilles paratyphiques vivants.

13 novembre, trouvé mort. Autopsie : les parois de l'intestin grêle sont fortement hyperémies; le contenu intestinal est liquide; la vésicule biliaire est distendue; la bile est bleu foncé; rien d'anormal dans les autres organes.

L'ensemencement du sang, de la bile et du contenu de la première moitié de l'intestin grêle donne une culture pure de bacille paratyphique B.

10 novembre, lapin témoin, non sensibilisé, 1.980 gr., reçoit dans les veines 1/20 de culture de bacille paratyphique. Survit.

EXPÉRIENCE IV. — 8 novembre et 9 novembre, lapin 1.770 grammes reçoit 8 cent. cubes de bile *per os*; le 9 novembre, laissé à jeun jusqu'au lendemain.

10 novembre, inoculation dans les veines de 1/100 de culture de bacille paratyphique sur gélose. 12 novembre, trouvé mort. Autopsie : même tableau macroscopique que d'ordinaire.

Ensemencement : sang — culture pure; bile — stérile; dans le duodénum, à côté de *B. coli*, des colonies peu nombreuses de bacille paratyphique.

16 novembre, lapin témoin, non sensibilisé, 1.730 grammes reçoit dans les veines 1/100 de culture paratyphique. Survit.

EXPÉRIENCE V. — 15 novembre et 16 novembre, lapin 2.200 grammes, préparation avec la bile; laissé à jeun pendant vingt-quatre heures.

17 novembre, 1/100 de culture sur tube de gélose dans les veines.

23 novembre, trouvé mort. Autopsie : contenu intestinal liquide; sang stérile; par contre, dans la bile et dans l'intestin grêle, sur une longue étendue, on trouve le bacille paratyphique B à l'état pur.

17 novembre, lapin témoin, non sensibilisé, 1.990 grammes, reçoit dans les veines 1/100 de culture de bacille paratyphique. Survit.

EXPÉRIENCE VI. — 27 mai, lapin 1.750 grammes, reçoit par la bouche 10 cent. cubes de bile mélangée avec de la poudre de réglisse à 4 h. de l'après-midi.

28 mai, 1.670 grammes, reçoit 8 cent. cubes de bile à midi et à 4 h. on lui inocule 1/50 de culture de bacilles paratyphiques B sur tube de gélose.

1^{er} juin, trouvé mort. L'animal étant en état avancé de décomposition, on se contente d'ensemencer le sang du cœur et la bile; les deux donnent une culture pure de bacilles paratyphiques.

28 mai, lapin témoin, non sensibilisé, 1.680 grammes reçoit dans les veines 1/50 de culture paratyphique. Survit.

EXPÉRIENCE VII. — 11 juin, lapin 2.030 grammes, reçoit à 4 h., 10 cent. cubes de bile + réglisse; laissé à jeun pendant vingt-quatre heures.

12 juin, 1.970 grammes, reçoit à 10 h. 8 cent. cubes de bile + réglisse, à 4 h. 1/30 de culture de bacilles paratyphiques B dans les veines.

13 juin, trouvé mort, 1.750 grammes. Contenu de l'intestin grêle est liquide; vésicule biliaire est grosse. Ensemencements : le sang et la bile donnent une culture pure de bacille paratyphique B. Le liquide intestinal, prélevé à différents niveaux, donne seulement des colonies de bacilles de *coli*.

Le témoin, non sensibilisé, 1.750 grammes, inoculé le 12 juin, dans les mêmes conditions que le précédent, a fini par mourir le 20 juin; il a donc eu une survie de huit jours sur le lapin sensibilisé, bien qu'il ait pesé 200 grammes de moins au moment de l'inoculation.

EXPÉRIENCE VIII. — 13 juin, deux lapins A — 2.450 grammes et B — 1.970 grammes, sont sensibilisés au moyen de la bile : on leur administre 10 cent. cubes de bile mélangée avec de la poudre de réglisse, puis on les laisse à jeun vingt-quatre heures.

14 juin, lapin A, pèse 2.080 grammes. Lapin B, pèse 1.930 grammes. A 10 h. du matin, on leur donne de la bile *per os*; à midi, on leur injecte dans les veines, ainsi qu'à un témoin de 2.010 grammes non sensibilisé, 1/24 de culture paratyphique sur gélose.

16 juin, A, pèse 1.700 grammes (a perdu 380 grammes) : B, pèse 1.600 grammes (a perdu 330 grammes), le témoin pèse 1.950 grammes (a perdu 60 grammes).

17 juin, A, pèse 1.620 grammes, le témoin pèse 1.900 grammes, B est mort. Autopsie du lapin B : 1.550 grammes; la vésicule biliaire est blanche. Rien d'anormal, ailleurs, excepté l'aspect de l'intestin portant des suffusions hémorragiques surtout au niveau du cæcum. Sang, bile et duodénum donnent une culture pure de bacilles paratyphiques B.

18 juin, mort du lapin A. Autopsie : 1.500 grammes; la vésicule renferme des agrégats blancs; la bile est épaisse, décolorée. L'intestin offre l'aspect caractéristique dans toute son étendue. Rien d'anormal dans les organes. Le sang est stérile. La bile donne une culture pure de paratyphique; il en est de même du contenu du duodénum et de l'intestin grêle à deux niveaux différents.

Donc, l'ingestion de la bile, surtout suivie de jeûne, inoffensive en elle-même, crée chez le lapin un état d'infériorité incontestable.

En faisant varier les conditions des expériences, nous nous sommes arrêté à la technique de sensibilisation que voici : la veille de l'inoculation, vers 5 heures du soir, nous faisons avaler à l'animal 10 cent. cubes de mélange de bile et de poudre de réglisse, après quoi nous le laissons à jeun; le lendemain matin, vers 10 heures, nous lui redonnons de la bile (10 cent. cubes), puis deux heures plus tard, vers midi, nous inoculons le virus dans les veines. L'animal est ensuite remis dans sa cage, et le jeûne est levé.

Si nous ajoutons de la poudre de réglisse à de la bile, c'est

pour masquer l'amertume de celle-ci et surtout pour en diminuer la fluidité et le danger de la pénétration de la bile dans les voies aériennes; notre mélange présente la consistance de bouillie.

Comme il résulte des expériences, lors de l'inoculation intra-veineuse, les lapins préparés par la bile succombent, à des doses de virus ($1/20$ - $1/400$ de culture) notablement inférieures à celles ($1/6$ - $1/10$ de culture) nécessaires pour tuer les lapins de même poids, non sensibilisés.

Nous assistons de la sorte au phénomène analogue à celui décrit, au début de cet article, chez les lapins infectés par la voie buccale : chez ceux-ci aussi l'ingestion préalable de la bile crée une réceptivité vis-à-vis du virus administré *per os*. Quelle que soit donc la porte d'entrée du virus, l'ingestion préalable de bile a pour effet immédiat de faire fléchir l'immunité naturelle.

Nous avons donc là une preuve de plus, s'il en fallait une, que le processus de l'infection paratyphique est exactement le même, que l'on s'adresse à la voie buccale ou à la voie veineuse.

Un autre enseignement, qui a trait au mécanisme de l'immunité naturelle, peut être tiré de ces expériences.

Nous avons vu que le lapin possède vis-à-vis des bacilles paratyphiques inoculés dans les veines un certain degré d'immunité. Cette immunité peut se traduire numériquement en fraction de culture supportée par l'animal.

Du fait de l'ingestion de la bile seule, l'état général du lapin ne subit aucun préjudice — les expériences de contrôle sont là pour le prouver — et cependant l'immunité de l'animal baisse dans une forte proportion. L'ingestion de la bile n'ayant de répercussion que sur le tube digestif, le fléchissement de l'immunité doit être évidemment en rapport avec ce dernier.

En effet, milieu électif pour les bacilles typhiques et paratyphiques, la bile favorise la culture de ces derniers dans l'intestin. Cholagogue puissant, la bile, par son action desquamante, balaie devant elle la couche superficielle de l'intestin. N'étant plus arrêtés par le mucus, trouvant un milieu favorable, les bacilles n'ont qu'à croître et à se multiplier dans le contenu intestinal, jusqu'à ce qu'ils tuent leur hôte.

Le point de départ de cette infection mortelle est la brèche créée par la bile dans la paroi intestinale : c'est l'intégrité de celle-ci qui assure au lapin normal, non sensibilisé, sa résistance au virus. Le mécanisme de l'immunité naturelle repose donc, en grande partie, sur celle de la paroi intestinale ; celle-là est donc locale.

Nous verrons dans la suite le parti que l'on peut tirer de la sensibilisation par la bile, tant au point de vue de la technique des vaccinations, que de la compréhension du mécanisme de l'immunité acquise.

CONCLUSIONS

C'est par la voie buccale que l'homme contracte la fièvre typhoïde ou paratyphoïde ; chez l'animal, par contre, cette voie n'offre, excepté chez le chimpanzé, aucune prise à l'infection.

Tandis que le lapin normal résiste à l'ingestion de doses massives de bacilles typhiques ou paratyphiques, le lapin préparé au moyen de la bile y succombe, avec prédominance des lésions intestinales, rappelant celles de la fièvre typhoïde du chimpanzé.

Les lésions intestinales identiques s'observent chez le lapin, non préparé par la bile, à la suite de l'injection du virus dans les veines.

Chez le lapin préparé par la bile, l'inoculation intraveineuse est particulièrement grave : une dose très faible de virus déclenche des lésions intestinales rapidement mortelles.

La facilité avec laquelle le lapin se laisse sensibiliser par la bile — qu'il s'agisse de l'infection par la voie buccale ou par la voie veineuse — indique que l'immunité naturelle de l'animal vis-à-vis du virus typhique ou paratyphique est, en grande partie, d'origine intestinale.

Le Gérant : G. MASSON.